

Nicht einzeln im Buchhandel.

Ueberreicht vom Verfasser

A

Abdruck aus
Archiv für experimentelle Zellforschung
besonders **Gewebezüchtung (Explantation)**

• Unter besonderer Mitwirkung von

AUBREY DREW, London, MONTROSE BURROWS, St. Louis, N. CHLOPIN, Leningrad,
ALBERT FISCHER, Kopenhagen, ROSS GRANVILLE HARRISON, New Haven,
A. KRONTOWSKI, Kiew, ERNST KÜSTER, Gießen, GIUSEPPE LEVI, Turin,
MARGARET LEWIS, Baltimore, WARREN LEWIS, Baltimore, LEO LOEB, St. Louis,
ALEXANDER MAXIMOW, Chicago, A. POLICARD, Lyon, R. RÖSSLE, Basel

herausgegeben von

Rhoda Erdmann

Berlin-Wilmersdorf

Band I

Verlag von Gustav Fischer in Jena
1925

553

Das „Archiv für experimentelle Zellforschung“ erscheint zwanglos in Heften. Je 4 Hefte bilden einen Band. Jedes Heft wird je nach Umfang einzeln berechnet.

Die Lehre von der Krebskrankheit

von den ältesten Zeiten bis zur Gegenwart.

Von

Sanitätsrat Prof. Dr. **Jakob Wolff**,
prakt. Arzt in Berlin

Drei Bände. 1907—1914 Gmk 83.—, geb. 100.—

Bd. 1: Mit 52 Abbild. im Text. XXXII, 747 S. 1907 Rmk 20.—, geb. 25.—

Inhalt: 1. Die Theorie von der Atrabilis. 2. Die Lymphtheorie. (Ende des 17. und 18. Jahrhunderts.) 3. Blastemtheorie. 4. Die Zellulopathologie und ihre Bedeutung für die Krebslehre. 5. Die Embryonaltheorien. 6. Die Zelltheorien. 7. Die parasitären Theorien.

Bd. 2: Mit 1 Abbild. im Text. LXVI, 1261 S. gr. 8° 1911 Rmk 36.—, geb. 42.—

Inhalt: 1. Biologische Aetiologie. 1a. Klinische Aetiologie. 2. Präcanceröse lokale Krankheiten. 3. Das Verhältnis der Krebskrankheiten zu anderen Erkrankungen. 4. Spezielle Krebsarten. 5. Allgemeine klinische Erscheinungen der Krebskrankheit. 6. Allgemeine Diagnose des Krebses. 7. Primärkrebs der Verdauungsorgane. 8. Primärkrebs der Atmungsorgane. 9. Primärkrebs des Urogenitalsystems. 10. Primärkrebs der Drüsen und einzelner drüsiger Organe.

Bd. 3, 1. Abtlg.: Statistik, Tier- und sogenannter Pflanzenkrebs. Mit 88 Tabellen im Text. XXII, 347 S. gr. 8° 1913	Rmk 10.—	} geb. Rmk 33.—
Bd. 3, 2. Abtlg.: Nichtoperative Behandlungsmethoden. Mit 3 Abbild. im Text. XLV, 618 S. gr. 6° 1914	Rmk 17.—	

Münchener med. Wochenschrift. 1915, Nr. 45: . . . Das Werk bildet wahrlich ein Denkmal deutschen Fleißes und deutscher Gründlichkeit und ist von unschätzbarem Wert für die weitere Krebsforschung. Es gibt aber auch zum ersten Male einen geschlossenen und erschöpfenden Ueberblick über die gewaltige Arbeit, welche auf dem Gebiete der Krebsforschung und Behandlung von den ältesten Zeiten bis auf die Gegenwart geleistet worden ist. . . .
G. Hauser.

Schmidts Jahrb. f. d. gesamte Medizin. 1915, August: . . . Einen besonderen Vorzug bilden die überaus reichen Quellenangaben und das sorgfältige Sachverzeichnis. Das Werk ist nicht bloß für den Historiker und Spezialforscher unentbehrlich, sondern bildet für jeden Arzt eine Fundgrube des Interessanten, zumal neben den ältesten Methoden auch die neuesten Behandlungen mit Elektrizität, mit radioaktiven Substanzen und die biologischen Behandlungsmethoden eingehend berücksichtigt wurden.
Walz, Stuttgart.

Deutsche medizin. Wochenschrift. 1914, Nr. 52: . . . Das mit ungewöhnlicher Arbeitskraft verfaßte Werk wird dauernd eine willkommene Grundlage für den weiteren Ausbau der Lehre von der Krebskrankheit bilden.
Ribbert, Bonn.

Archiv f. Dermatologie u. Syphilis. Bd. 122, Heft 3: . . . Selbst überall den Quellen nachgehend, hat der Autor ein Quellenwerk geschaffen, das für Arbeiten auf dem Gebiete der Krebskrankheit unentbehrlich ist. . . .
W. Pick, Wien.

*Al mio Prof. J. Vasselli.
il suo amico
O. Olivo*

Nachdruck verboten.

Übersetzungsrecht vorbehalten.

(Dall' Istituto Anatomico della R. Università di Torino.)

Sull' inizio della funzione contrattile del cuore e dei miotomi dell' embrione di pollo in rapporto alla loro differenziazione morfologica e strutturale.

Per il Dott. **Oliviero Olivo.**

Con 18 figure nel testo.

Sommario: I° Introduzione. — II° Tecnica. — III° Inizio della funzione e differenziazione strutturale e morfologica dell' abbozzo cardiaco. — A. Esperimenti fatti su blastodermi raccolti prima dell' inizio delle contrazioni dell' abbozzo cardiaco, la cui differenziazione strutturale e funzionale avvennero in vitro. — B. Esperimenti fatti su blastodermi raccolti quando già erano iniziate le pulsazioni dell' abbozzo cardiaco. — C. Esperimenti sulla sincronicità nelle contrazioni di frammenti di cuore coltivati in vitro. — D. Considerazioni. — a) Momento e modo in cui si iniziano le prime contrazioni cardiache; loro sede e caratteri. — b) Forma e struttura dell' abbozzo cardiaco durante le prime ore di attività contrattile. — c) Rapporti fra la differenziazione delle miofibrille e l'azione del calcio sull' abbozzo cardiaco. — d) Eccitabilità e automaticità. — e) Sincronicità fra le singole parti del cuore. — Meccanismo della conduzione dell' eccitamento alla contrazione. — Connessioni fra i mioblasti. — IV° Differenziazione strutturale e funzionale dei miotomi. — A. Descrizione degli esperimenti. — B. Considerazioni. — a) Inizio ed evoluzione della contrattilità dei miotomi; loro rapporti con la differenziazione istologica dei miotomi. — b) Tempo di eccitazione latente; sommazione degli stimoli; contrazioni ritmiche; legge del tutto o del nulla nei miotomi. — c) Contrattilità latente e contrazioni spontanee nei miotomi. — V° Zusammenfassung. — Bibliografia.

Lo scopo principale delle presenti ricerche fu quello di determinare quale sia lo stato di evoluzione strutturale della muscolatura volontaria e cardiaca dell' embrione di pollo all' inizio della sua capacità contrattile. Il problema dei rapporti esistenti tra struttura e architettura del tessuto muscolare e i vari tipi di funzione contrattile fisiologicamente dimostrabili, fu prospettato fino dai primordi della dottrina cellulare. Non rifarò la storia delle numerose

ricerche di istofisiologia fatte in questo campo, rimando per esse all'ottima monografia di Prenant (1911) dove è raccolta quasi tutta la letteratura precedente al 1912. Come risulta dalla lettura del lavoro di Prenant e da una scorsa alla letteratura di questi ultimi anni sono ben scarsi i lavori che si occupano in modo preciso di questo problema istofisiologico su materiale embrionale, al momento dell'inizio della capacità funzionale dei tessuti contrattili. Ci sono ricerche molto accurate e precise sull'istogenesi del tessuto muscolare, e per ricordare soltanto gli A.A. più noti farò i nomi di Heidenhain, Godlewski, Meves, Duesberg, Asai; ma mancano osservazioni fisiologiche condotte parallelamente. Ciò è dovuto alle grandi difficoltà tecniche che si interpongono. Ricorderò in proposito quanto ebbe a scrivere nel 1912 Bottazzi, che aveva chiaramente posto il quesito dei rapporti esistenti fra differenziazione strutturale ed evoluzione funzionale dei muscoli embrionali: "Esiste certamente un periodo iniziale dello sviluppo, durante il quale il condrioma non ha ancora dato origine a vere e proprie miofibrille. Ebbene, durante questo periodo il protoplasma dei mioblasti è già dotato di contrattilità? Ma la questione è assai difficilmente solubile, perchè pare che la comparsa delle prime miofibrille abbia luogo nei primissimi stadii di sviluppo dei mioblasti, quando è se non impossibile, difficilissimo fare esperimenti fisiologici al fine di vedere se i mioblasti sono contrattili. Ma anche se la fibrillogenesi si iniziasse solo dopo la fusione sinciziale dei mioblasti, questo avvenimento è già per se tanto precoce che le difficoltà sperimentali non sarebbero minori."

I soli lavori a me noti, sui rapporti esistenti fra l'inizio della differenziazione morfologica e quella funzionale dei muscoli volontari sono quelli di Engelmann (1875); di Weiss (1899) fatti su larve di anfibi e embrioni di pollo, di Hooker D. (1911) sulla rana, e di Vlès (1911) (citato da Prenant) sui selacei; infine il lavoro, certamente più notevole in questo campo, perchè condotto con tecnica istologica e metodi fisiologici assai precisi, di Galeotti e Levi (1913) sugli anfibi. Risultato concorde di questi A.A. è che la contrattilità dei muscoli volontari è dimostrabile soltanto dopo avvenuta la differenziazione delle miofibrille.

Pure non molto numerose sono le ricerche analoghe fatte sul tessuto cardiaco. Ricordo soltanto Chiarugi (1897), Kurkiewicz (1909), Bruno (1918). Stando alle ricerche di quest'ultimo le prime contrazioni si avrebbero dopo che si sono differenziate delle mio-

fibrille; però dato il loro scarso numero l'A. dubita che ad esse sia indissolubilmente legata la funzione contrattile del miocardio.

Se col perfezionarsi dei mezzi tecnici di indagine istologica è stato possibile dimostrare in periodi sempre più precoci dello sviluppo l'esistenza di miofibrille nel materiale contrattile, tanto che ora non si può più dubitare della possibilità di dimostrare istologicamente l'esistenza di strutture fibrillari, quando queste sieno otticamente risolubili, sorge però spontanea la domanda se nelle ricerche che ho ricordato sopra, anche l'osservazione e la registrazione delle contrazioni fosse fatta con sufficienti precauzioni e con mezzi abbastanza sensibili per sorprendere le precocissime contrazioni del cuore o di un miotomo che, come si poteva prevedere, sono estremamente esigue e deboli, e molto labili di fronte ai varii agenti dannosi esterni.

Lo stabilire con la massima precisione possibile il momento e il modo in cui si inizia una determinata funzione mi sembra non sia ozioso, e non soltanto per il problema particolare che mi sono proposto, ma anche dal punto di vista della fisiologia dell'embrione; lo studio della genesi di una funzione e delle sue tappe evolutive può servire a meglio intenderne l'essenza e il meccanismo, inoltre la comparsa della funzione in qualsiasi nuovo organo esercita certamente notevole influenza sullo sviluppo di tutto l'embrione e il suo studio accurato può giovare ad illustrare non soltanto problemi di fisiologia ma anche problemi di morfologia e di meccanica dello sviluppo.

Fui invogliato alle presenti ricerche dalla speranza di avere nella tecnica delle colture in vitro un mezzo per sorprendere agevolmente e con maggiore precisione di quella avuta da altri autori le prime contrazioni dei tessuti contrattili embrionali, per la considerazione che tale tecnica consente l'esame microscopico anche con forti ingrandimenti e che le condizioni in cui vengono a trovarsi i tessuti studiati si avvicinano di molto per le proprietà fisiche e chimiche del mezzo in cui sono contenuti (cioè il plasma sanguigno) all'ambiente normale dell'embrione.

Le previsioni non furono deluse in quanto potei constatare tanto per il cuore quanto per i miotomi la capacità contrattile in un periodo notevolmente anteriore a quello ammesso dagli autori che mi precedettero. Nel corso degli esperimenti mi potei persuadere che la tecnica seguita si può prestare a ricerche assai più precise e delicate delle mie, che si basarono sulla semplice osservazione delle contrazioni. Numerosi esperimenti fatti avrebbero maggiore valore

e sarebbero più ricchi di dati se documentati con la registrazione grafica; ritengo che tale registrazione sia entro certi limiti tecnicamente possibile, ma io non disponevo di mezzi di registrazione adeguati. Referisco tuttavia alcuni dati di semplice osservazione in primo luogo perchè si tratta di differenze qualitative o quantitative notevoli e caratteristiche sicchè anche la semplice descrizione non è priva di ogni valore, e in secondo luogo nella speranza che altri sia invogliato a completare queste ricerche con mezzi tecnici più completi.

II^o Materiale e tecnica.

Le presenti ricerche furono fatte su embrioni di pollo, incubati alla temperatura di 38°—39°. Per studiare le contrazioni dell'abbozzo cardiaco raccoglievo i blastodermi verso la 29^a—30^a ora di incubazione; ritagliavo l'area embrionaria per mezzo di una forbicina con quattro tagli netti, due paralleli e due normali all'asse principale dell'embrione, distanti tra loro 8—10 mm.; trasportato il blastoderma, mediante una larga spatola, in una capsula con soluzione di Ringer-Locke alla temperatura di 35°—40° agitavo cautamente il liquido sì da lavare l'embrione dal vitello e da liberarlo dalla membrana vitellina. Quindi raccoglievo il blastoderma, accuratamente disteso, su un vetrino copri-oggetti, immergendo questo nel liquido, curando che l'embrione vi aderisse mediante la faccia ventrale; vi versavo sopra una goccia di plasma di pollo, e appena avvenuta la coagulazione capovolgevo il preparato su un porta-oggetti ad incavo e ne lutavo i bordi con paraffina. Volendo esaminare l'eccitabilità elettrica del cuore, introducevo nel sottile strato di plasma, passando tra porta- e copri-oggetti due sottili fili di platino che facevo arrivare con un'estremità fino in prossimità dell'estremo cefalico e caudale dell'embrione, e con l'altra lasciavo sporgere liberi alle due estremità del porta-oggetti, dove stabilivo i contatti con gli elettrodi mediante una goccia di soluzione salina. Allestito così in pochi minuti il preparato, iniziavo subito l'esame al microscopio, dentro a un termostato regolato molto bene a 39°. Se l'abbozzo cardiaco era già pulsante, dopo pochi minuti riprendeva a contrarsi ritmicamente. Con tale procedimento si è sicuri di esaminare il blastoderma in condizioni molto favorevoli alla sua sopravvivenza; siamo certi che, uno dei fattori più importanti, la temperatura è bene regolata ed è costante; il blastoderma è mantenuto fisso e aderente al vetrino dal plasma, in modo che è possibile l'esame microscopico con ingrandimenti anche abbastanza

forti, cosa indispensabile per rilevare le prime contrazioni molto deboli; inoltre il blastoderma continua il suo sviluppo normale, sicchè se raccolto prima dell'inizio del battito cardiaco, si possono sorprendere le primissime contrazioni cardiache.

Per chiarire meglio alcuni punti riguardanti la funzione cardiaca, feci pure alcuni esperimenti su frammenti di cuore embrionale a uno stadio di sviluppo più avanzato. Per questi esperimenti feci delle colture normali secondo il metodo di Burrows-Carrel. Per gli eccitamenti elettrici introducevo nel plasma, in prossimità dei punti da stimolare sottili elettrodi di platino in modo analogo che con l'embrione intero; per le lesioni meccaniche usai l'apparecchio di microdissezione di Péterfi. Per eseguire le varie operazioni i copri-oggetti con il preparato da esaminare veniva staccato dal porta-oggetti a incavo e fissato sulla camera umida annessa all'apparecchio. Per i dettagli di tecnica vedi Péterfi '24.

Per le contrazioni dei miotomi, raccolsi embrioni a vario stadio di sviluppo, a partire dalla 60^a ora di incubazione. Portati gli embrioni in soluzione di Ringer-Locke, li liberavo dall'amnios e dal tubo cardiaco (quest'ultimo perchè le sue contrazioni spontanee non mi inducessero in errore) e quindi montavo o l'embrione intero o parti di esso in plasma, su un copri-oggetti come è indicato per il cuore; per esaminare frammenti di embrioni tagliavo con forbicine ricurve dei segmenti interessanti 5—10 miotomi, che spesso suddividevo in due con un taglio sagittale mediano, e ne facevo tanti preparati. Per i miotomi oltre a far attenzione di evitare qualsiasi schiacciamento o stiramento, bisogna badare, nel montarli in plasma, di fissarli in estensione. I miotomi in mezzo liquido, specialmente se a temperatura bassa, si contraggono accentuando la curva a concavità ventrale dell'embrione, e rimangono così contratti; perciò bisogna mantenerli distesi sino a che il plasma non è coagulato. È preferibile usare plasma diluito con due o tre parti di soluzione fisiologica, specialmente per gli embrioni meno sviluppati.

Per ottenere le contrazioni dei miotomi ricorsi a stimoli semplici e multipli di corrente indotta. Come per constatare l'eccitabilità del cuore, introducevo nel plasma due sottili elettrodi di platino, sino quasi in contatto con l'estremità cefalica e caudale dell'embrione o del suo frammento. Nei primi esperimenti gli stimoli erano ottenuti mediante una pila Leclanché e una slitta di Du-Bois Reymond. In seguito ricorsi all'uso di una batteria di sei accumulatori e di una resistenza inserita nel primario, e sostitui gli elettrodi di platino con capillari ripieni di soluzione fisiologica, che

venivano messi in contatto con elettrodi impolarizzabili al calomelano; i risultati ottenuti furono in tutto eguali a quelli ottenuti con elettrodi non impolarizzabili.

Appena fatte le osservazioni, tanto i blastodermi esaminati per le contrazioni cardiache quanto gli embrioni per le contrazioni dei miotomi venivano fissati in liquido di Maximow, inclusi in paraffina, sezionati in serie e colorati con l'ematossilina ferrica per l'esame istologico. A documentare lo sviluppo dell'abbozzo cardiaco che avveniva in vitro, feci a vari intervalli delle fotografie dei blastodermi viventi. Alcuni blastodermi studiati per le contrazioni cardiache furono fissati in liq. di Zenker e colorati in toto con carmallume.

III^o. Inizio della funzione e differenziazione strutturale e morfologica dell'abbozzo cardiaco.

A. Esperimenti fatti su blastodermi raccolti prima dell'inizio delle contrazioni dell'abbozzo cardiaco la cui differenziazione strutturale e funzionale avvenne in vitro.

Esp. CXV. — Embrione alla 29^a ora d'incubazione, St. 5—6 somiti, abbozzo cardiaco molto arretrato, non pulsa.

Dopo 3 ore: St. 8 Somiti, abbozzo cardiaco in forma di breve tubo, lievemente conico, non pulsa.

Esp. LX. — Embrione alla 33^a ora di incubazione, St. 6 somiti, abbozzo cardiaco molto arretrato, appena accennato sotto forma di un breve triangolo a margini concavi situato anteriormente alla porta intestinale. Non pulsa.

Trattato con soluzione di CaCl_2 non reagisce in alcun modo.

Sulle sezioni seriali la cavità delimitata dal tubo endoteliale è in forma di sottile fessura disposta trasversalmente, l'endotelio è costituito da cellule piuttosto voluminose. Le due cavità pleuro-pericardiche sono completamente divise. La parte di mesoderma viscerale destinata a formare il mantello mioepicardico è sottilissima, costituita da un unico strato di piccole cellule affusate, ricche di vitello, unite in catena. Ventralmente il punto di riflessione in direzione laterale avviene piuttosto distante dalla linea mediana e le cellule non mutano carattere; dorsalmente invece i due foglietti mesodermici presentano una notevole rientranza verso la linea mediana, però senza giungere a contatto, si ripiegano ad angolo acuto in direzione laterale; da questo punto il foglietto mesodermico è sempre unicellulare ma le cellule sono più voluminose, sono orientate in modo da avere l'asse maggiore fra loro parallelo e presentano verso la parete intestinale lunghi prolungamenti. La doccia neurale è chiusa sino circa a livello della porta intestinale.

Esp. CLII. — Embrione alle 27^a ora d'incubazione, St. 6 somiti. Forma dell'abbozzo cardiaco simile a quello del precedente (vedi fig. 1a).

Dopo ore 1,30: St. 7 somiti; l'abbozzo cardiaco ha modificato la sua forma (vedi fig. 1b), non pulsa.

Dopo 4 ore e mezza: St. somiti 8, sistema nervoso e abbozzo cardiaco notevolmente progrediti nello sviluppo (vedi fig. 1c). In corrispondenza del punto segnato con asterisco si nota regolarmente ogni 15—16 secondi una contrazione del tubo cardiaco di escursione assai limitata. Il tratto assai piccolo di parete cardiaca, che pulsa, appena raggiunto, con movimento abbastanza rapido, il massimo della contrazione, si rilascia lievemente e prima di espandersi completamente presenta 3—4 piccolissime oscillazioni.

Esp. CXVI. — Embrione alla 30^a ora d'incubazione, St. 6—7 somiti, abbozzo cardiaco simile a quello della fig. 1a, non pulsante.

Dopo 2 ore: St. 7 somiti, cuore poco progredito nello sviluppo, non pulsa. L'eccitamento faradico intenso e prolungato resta senza alcun effetto.

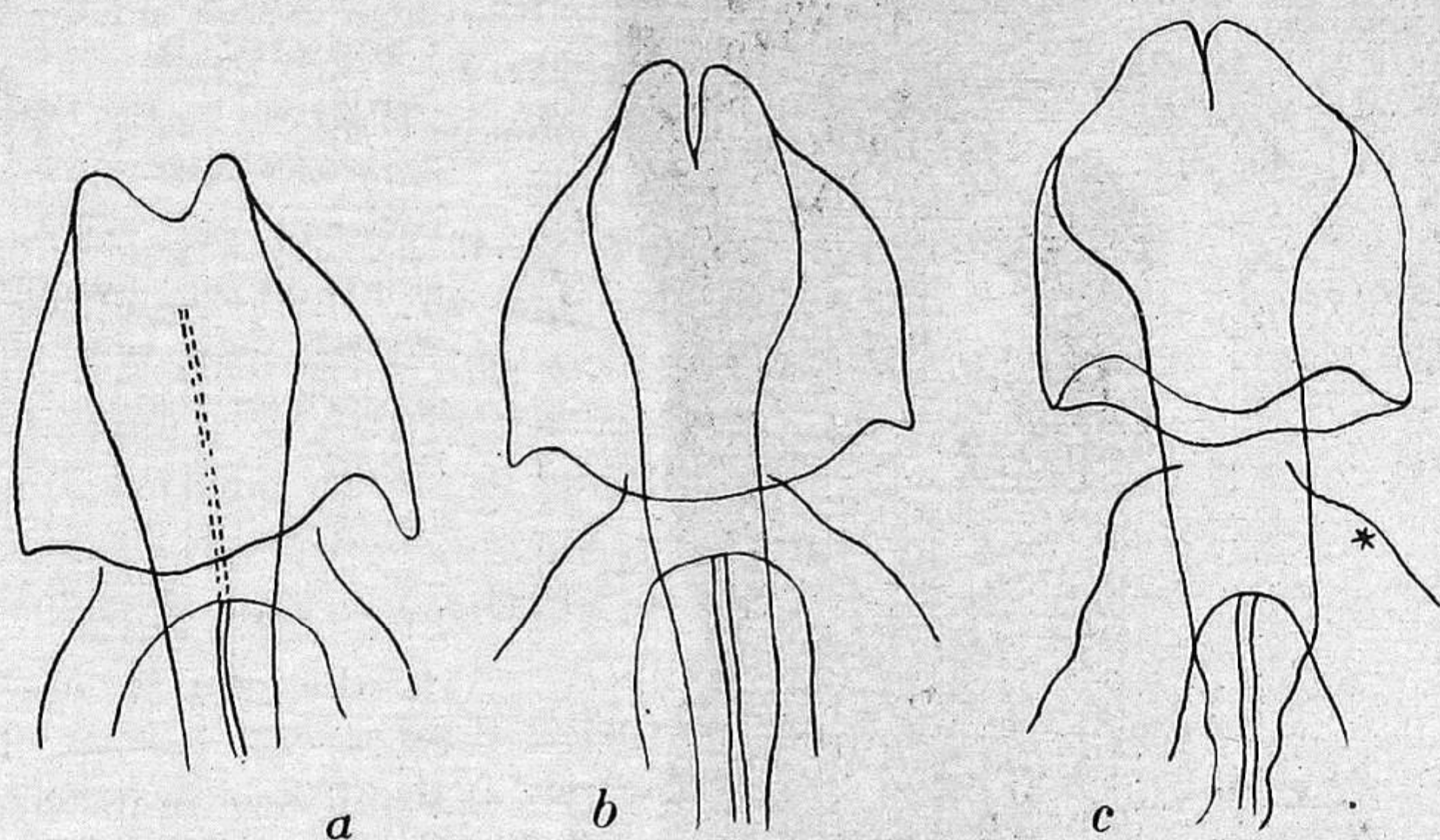


Fig. 1. Segmento anteriore dell'embrione CLII, fatto sviluppare in vitro. *a* alla 27^a ora di incubazione, St. 6 somiti. — *b* dopo ore 1,30 di coltura in vitro, St. 7 somiti. — *c* dopo ore 4,30 di coltura in vitro, St. 8 somiti. — * zona in cui si iniziarono le contrazioni. Disegni tratti da fotografie fatte con l'app. Phoku. Ingr. 40 diam. (rid. a $\frac{3}{4}$).

Esp. CLIX. — Embrione alla 28^a ora d'incubazione, St. 7 somiti, abbozzo cardiaco non pulsante.

Dopo 2 ore: St. 8 somiti, cuore morfologicamente progredito, non pulsa.

Dopo 1 ora: St. 9 somiti, una zona limitata della metà sinistra dell'abbozzo cardiaco si contrae ritmicamente, 14 contrazioni al minuto.

Raffreddato il blastoderma a 27—28°: cessa di pulsare, sembra arrestato in contrazione, stimoli faradici anche intensi restano inefficaci.

Riportato a 36°—38° dopo alcuni minuti riprende a pulsare; eccitato colla corrente faradica risponde con un acceleramento del ritmo.

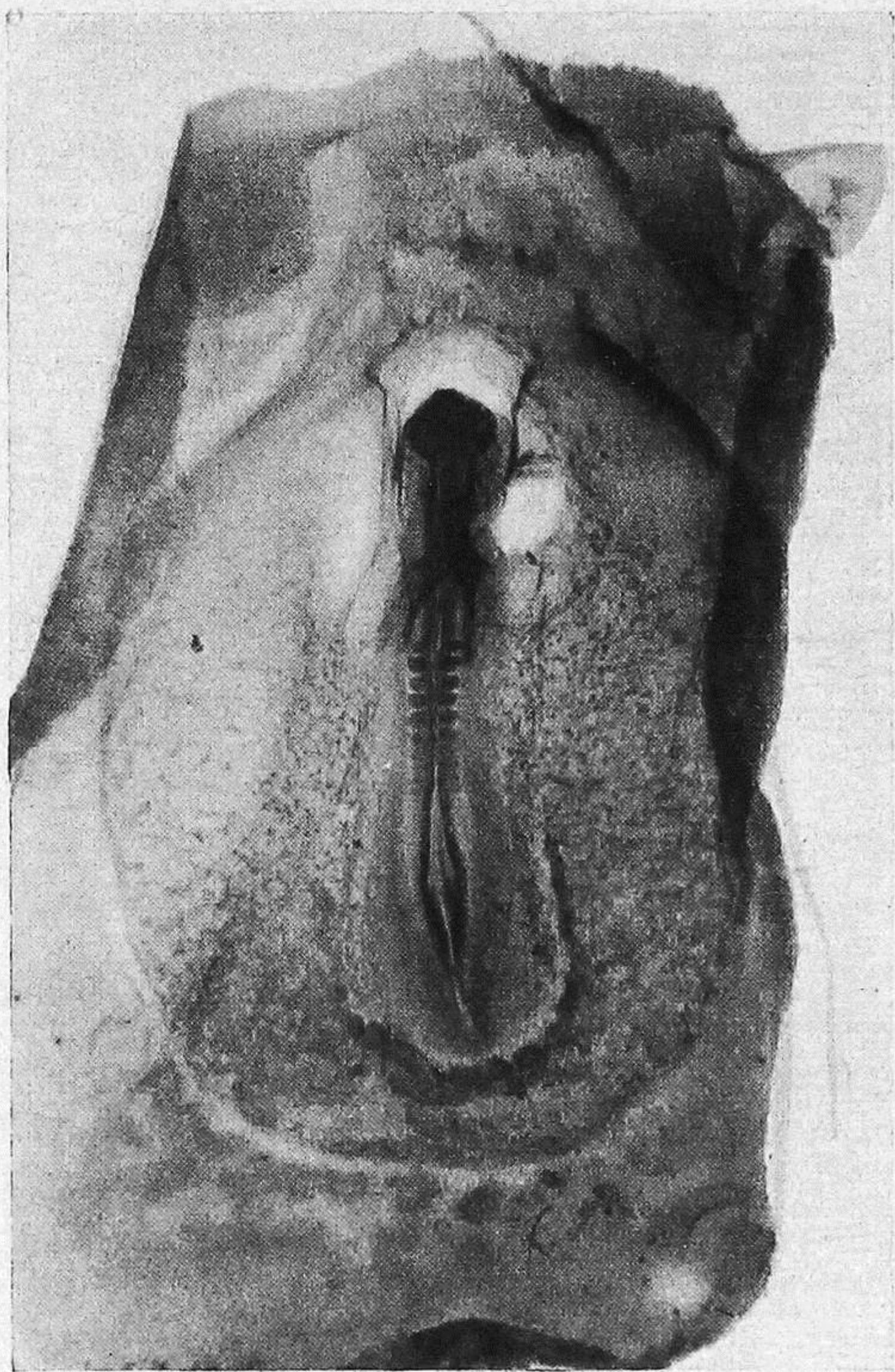
Contrazioni spontanee 16 al minuto; durante la stimolazione faradica (distanza dei rocchetti 5 cm.) contrazioni 22 al minuto.

Il blastoderma fissato in Zenker e colorato in toto presenta il tubo cardiaco rigonfio nella parte mediana; il suo margine destro si continua col margine della rispettiva vena onfalo-mesenterica secondo una linea arcuata a con-

cavità esterna, il margine sinistro nel punto di continuazione col margine della vena onfalo-mesenterica sinistra è intaccato da una profonda incisura. Nei $\frac{2}{3}$ craniali del tubo cardiaco si apprezza molto bene la persistenza del mesocardio ventrale.

Esp. CVI. — Embrione alla 30^a ora d'incubazione, St. 7 somiti, forma dell'abbozzo cardiaco simile a quello della fig. 1c, non pulsa.

Dopo 3 ore: St. 9 somiti, cuore in forma di piccolo otre, pulsa validamente; 42 contrazioni al minuto.



Il blastoderma fissato in Zenker colorato in toto col carminio, presenta il cuore di forma simile a quella ottenuta disegnandolo dal vivente colla camera lucida. Caratteristica tra il tubo cardiaco e le vene onfalo-mesenteriche una profonda incisura che colla fissazione si è fatta più marcata. I tratti iniziali delle vene onfalo-mesenteriche sono un poco rigonfi.

Fig. 2. Embr. CXXXI raccolto alla 31^a ora d'incub., St. 7 somiti. — Dopo ore $2\frac{1}{2}$ di coltura in vitro si hanno 8-9 somiti, e incominciano contrazioni ritmiche regolari alla metà destra dell'abbozzo cardiaco (18 al min.). — Fiss. Zenker, Col. Carminio. — Fotogr. fatta con l'app. Edinger. Ingr. 14 diam.

Esp. CLIII. — Embrione alla 28^a ora d'incubazione, St. 7 somiti, l'abbozzo cardiaco non pulsa.

Dopo 2 ore: St. 8 somiti; tubo cardiaco molto breve, lievemente rigonfio nella parte di mezzo, nella metà sinistra una netta incisura segna il limite colla vena onfalo-mesenterica. La metà sinistra dell'abbozzo pulsa ritmicamente, 32 contrazioni al minuto.

Esp. CXXXI. — Embrione alla 31^a ora d'incubazione, St. 7 somiti. Abbozzo cardiaco molto arretrato, di forma triangolare, con pareti laterali concave verso l'esterno.

Stimolazioni elettriche inefficaci.

Dopo 1 ora: St. 7—8 somiti, il cuore non pulsa; sempre ineccitabile con stimoli elettrici.

Dopo ore 1,30: St. 8—9 somiti, tubo cardiaco breve, con pareti lievemente convesse verso l'esterno, a destra piccola incisura segna il limite della vena onfalo-mesenterica. Nella metà destra contrazioni ritmiche regolari di escursione piccolissima, 18 al minuto (v. fig. 2).

Gli stimoli elettrici fanno aumentare la frequenza delle pulsazioni.

Contrazioni spontanee:	in $\frac{1}{2}$ min. 9
Durante la stimolaz. faradica:	
con rocchetti a 6 cm	" $\frac{1}{2}$ " 10
" " 5,5 "	" $\frac{1}{2}$ " 14
Contrazioni spontanee (dopo pochi min.)	" $\frac{1}{2}$ " 8—9

Per la forma dell'abbozzo cardiaco dopo fissazione in Zenker v. fig. 2.

Esp. CXXVI. — Embrione alla 31^a ora d'incubazione, St. 7—8 somiti, abbozzo cardiaco molto arretrato, piccolo, triangolare con margine concavo.

Dopo $\frac{1}{2}$ ora: St. 8—9 somiti, cuore un poco progredito morfologicamente. Non pulsa e non risponde a stimoli faradici intensi (distanza dei rocchetti cm. 2).

Dopo 2 ore e $\frac{1}{2}$ St. 9—10 somiti. Cuore in forma di piccolo otre, sui due lati il limite colle vene onfalo-mesenteriche è segnato da due incisure. Contrazioni asincrone delle due metà dell'abbozzo cardiaco: a destra 39 contrazioni al minuto, a sinistra 51 contrazioni al minuto.

Colpi di corrente indotta di apertura con i rocchetti alla distanza di 3,5 cm. restano inefficaci in qualunque momento della rivoluzione cardiaca si facciano arrivare, colpi di apertura con i rocchetti a 3 cm. danno delle contrazioni anticipate.

Effetto della stimolazione faradica:

Contrazioni normali (a destra)	in 20 " 14 contr.
Durante la stimolazione faradica, rocch. a 6 cm,	" 20 " 16 "
" " " " 5 "	" 20 " 18 "
" " " " 4 "	" 20 " 26 "
" " " " 3,5 "	" 20 " 26 "

Dopo alcuni minuti contrazioni normali in 20 sec. 14.

(Durante la stimolazione con i rocchetti a 4 cm. e $3\frac{1}{2}$ cm. le contrazioni sono molto ravvicinate all'inizio e poi vanno diradando.)

Dopo 1 ora: le 2 metà dell'abbozzo cardiaco continuano a pulsare ritmicamente ma sempre asincronicamente.

Immersione del blastoderma per 3 minuti in soluzione isotonica di cloruro di calcio: Tubo cardiaco contratto (temperatura 27°). Senza lavarlo dal cloruro di calcio dopo pochi secondi riprende a pulsare ritmicamente, 32 contrazioni al minuto. Non si osservano contrazioni fibrillari.

Stimolazione elettrica: colpi di apertura di corrente indotta con i rocchetti a 4 cm. sono inefficaci; con i rocchetti a 3,5 cm. si ottengono delle extrasistoli.

Colla corrente faradica si ottengono risultati simili a quelli riferiti sopra; però colla stimolazione molto intensa (rocchetti alla distanza di cm. 3,5 e cm. 3) si ottiene un aumento sempre maggiore e più duraturo della frequenza delle contrazioni, il cuore si stanca meno facilmente; soltanto le contrazioni diventano di escursione sempre più limitata per un'incompleta espansione diastolica.

Sulle sezioni seriali per quanto si riferisce alla forma del cuore (vedi fig. 3) si osserva che i tubi endoteliali sono accollati ma conservano internamente un sepimento divisorio, in alcuni tratti anzi si hanno dei setti endoteliali multipli che dividono la cavità in più aree di forma irregolare e grandezza ineguale. Il mantello mioepicardico conserva soltanto nella parte caudale il mesocardio ven-

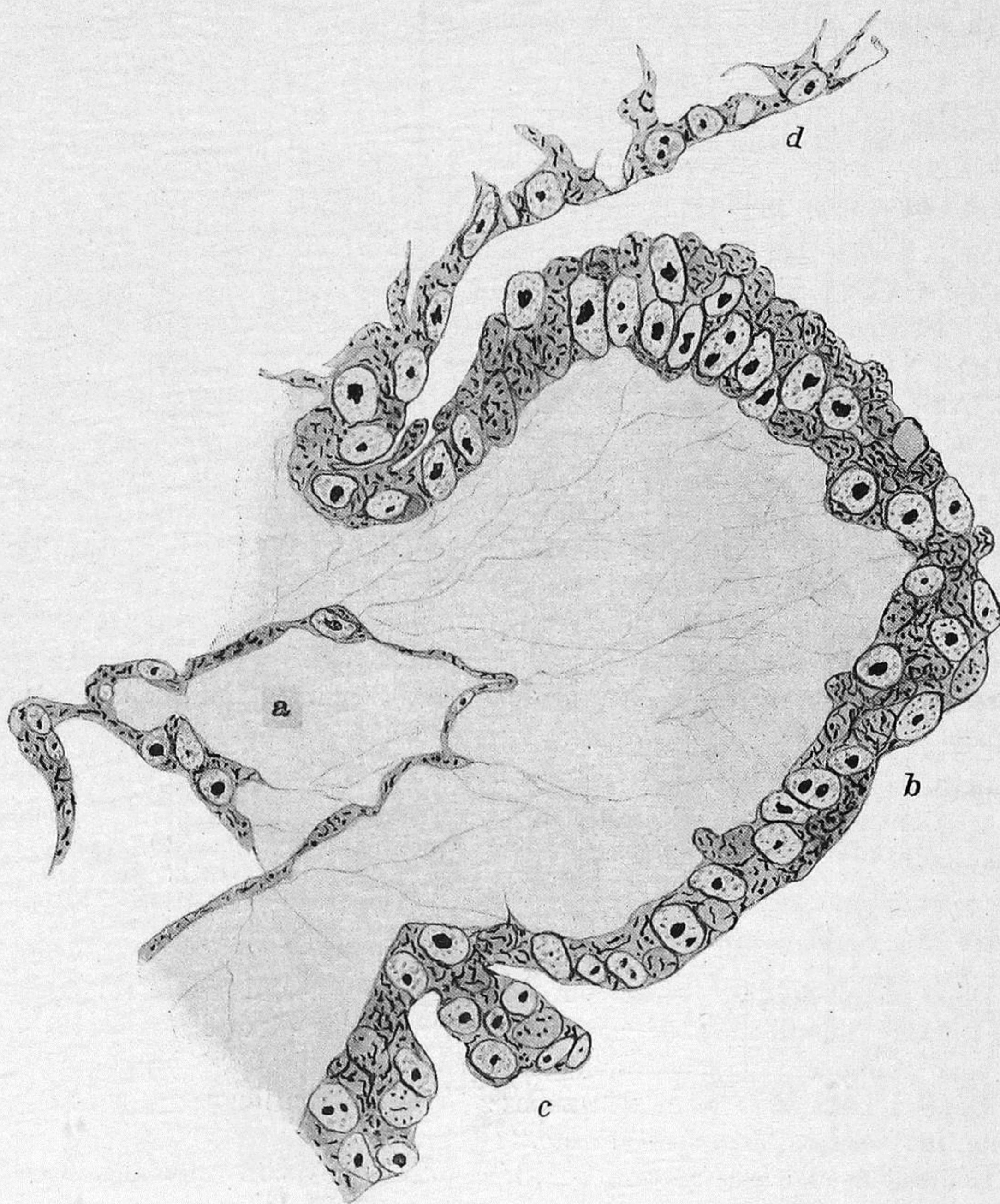


Fig. 3. Embr. CXXVI, 9—10 somiti. Contrazioni asincrone delle due metà dell'abbozzo cardiaco. Sez. trasversa della parte media del cuore. *a* tubi endoteliali, *b* mantello mioepicardico, *c* residuo del mesocardio ventrale, *d* somatopleura. Fiss. Liq. di Maximow. Color. Emat. ferr. Ingr. 750 diam.

trale integro, nella parte media e craniale invece esso è ridotto a una gemma solida di tessuto (fig. 3 *c*) che sporge nella cavità pleuropericardica, divenuta unica; dorsalmente invece le due pieghe della somatopleura sono ancora notevolmente discoste. Per la minuta struttura la parete cardiaca è costituita da un unico strato di cellule di aspetto epitelioido piuttosto alte e prismatiche nelle parti

lateralì, più basse e d'aspetto più globoso verso la linea mediana; esse sono provviste di grossi nuclei vescicolosi, il loro citoplasma è ricco di brevi condrioconti tortuosi, diposti senza orientamento. Le cellule sono fortemente stipate fra loro e i limiti cellulari sono poco evidenti, soltanto qua e là si nota qualche piccola fessura tra le pareti cellulari, sempre però contenuta nello spessore della parete; tali fessure sono più numerose nelle parti vicine alla somatopleura e verso la linea mediana; le due superfici interna ed esterna della parete cardiaca presentano qualche lieve rilevatezza ma sono affatto esenti da discontinuità. In nessuna sezione del tubo cardiaco non si osservano miofibrille. Al punto di riflessione nella somatopleura, gli elementi assumono subito caratteri mesenchimali.

Esp. CXX. — Embrione alla 33^a ora e $1\frac{1}{2}$ d'incubazione, St. 8 somiti, non pulsa. Dopo un'ora St. 8—9 somiti; prime contrazioni nella metà destra, le contrazioni sono dicrote, frequenza 14 al minuto.

Sulle sezioni seriali: Tubi endoteliali di lume assai piccolo, formati da cellule piuttosto voluminose. I punti di riflessione del mantello mioepicardico nella somatopleura dorsalmente sono tra loro molto lontani; il mesocardio ventrale è scomparso per tutta la lunghezza del tubo cardiaco; la parete ventrale del tubo cardiaco è fortemente introflessa e raggiunge sulla linea mediana quasi la parete intestinale, separando in tal modo i due tubi endoteliali. Il mantello mioepicardico è sottile nelle parti dorsolaterali e mediana, è più spesso in corrispondenza dei margini ventrolaterali; esso è costituito da cellule prismatiche e cubiche, che sono tra loro più stipate nelle parti più spesse della parete cardiaca: nelle parti laterali e mediana vi sono numerose fessure intraparietali; i singoli mioblasti contengono un nucleo ovalare vescicoloso, nel citoplasma numerose grosse gocce di vitello, condrioma abbondante costituito da brevi condrioconti sinuosi disposti senza orientamento particolare. Non si osservano miofibrille.

Esp. CXLIII. — Embrione di 33 ore St. 8—9 somiti, non pulsa.

Dopo un'ora St. 9 somiti, la metà sinistra dell'abbozzo cardiaco pulsa ritmicamente, 8 contrazioni al minuto.

Dopo un'ora 9—10 somiti, contrazioni ritmiche e sincrone di tutto l'abbozzo cardiaco, 34 al minuto.

Esp. CXVIII. — Embrione di ore 33 $\frac{1}{2}$ d'incubazione, St. 8—9 somiti, non pulsa.

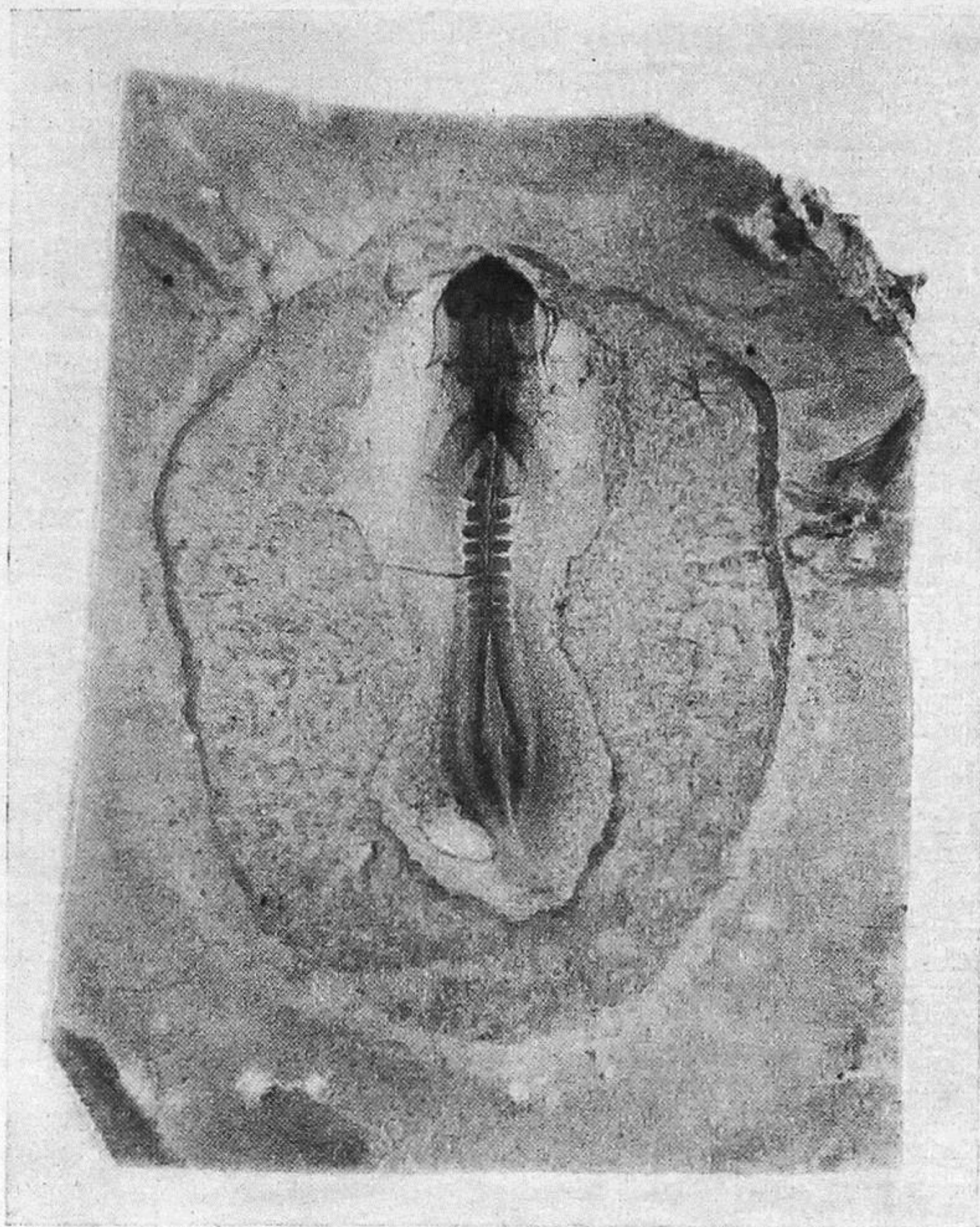
Dopo 50 minuti St. 9 somiti; nella metà sinistra dell'abbozzo cardiaco si nota un solco al limite colla vena onfalomesenterica, la metà sinistra del tubo cardiaco presenta 11 contrazioni ritmiche al minuto, limitate a una zona piccolissima, sovrastante all'origine della vena onfalo-mesenterica. Prima del completo rilasciamento della parete cardiaca si hanno ad ogni contrazione 5—6 piccole oscillazioni come quelle osservate nell'esperimento CLII.

Blastoderma fissato e colorato in toto: si apprezza come nel vivente la piccolezza del tubo cardiaco e l'incisura che lo separa dalle vene onfalo-mesenteriche; tale incisura è più marcata a sinistra, parte in cui si è iniziata la contrazione (v. fig. 4).

Esp. CXXVII. — Embrione di ore 31 $\frac{1}{2}$, d'incubazione St. 8—9 somiti, tubo cardiaco un poco rigonfio nella parte di mezzo, una lieve incisura al

limite delle vene onfalomesenteriche. Per tutta la lunghezza del tubo cardiaco si apprezza bene la persistenza del mesocardio ventrale, vedi fig. 5 A, non pulsa.

Dopo un'ora St. 9—10 somiti, persiste il mesocardio ventrale, contrazioni appena percettibili asincrone nelle due metà, le singole contrazioni presentano una doppia elevazione come quelle dell'esp. CXX⁰. A destra 18 contrazioni al minuto, a sinistra 20 contrazioni al minuto.



Dopo 15 min. di osservazione le contrazioni non sono più dicrote. Il ritmo cardiaco va gradualmente accelerando e le contrazioni si fanno più valide. Contando a destra il numero delle contrazioni per minuto di 10 in 10 minuti si ottengono i seguenti valori: 27, 30 31, 34, 36.

Fig. 4. Embr. CXVIII, raccolto alla 30,30 ora di incubazione, St. 8—9 somiti. Dopo 50 minuti si hanno 9 somiti, e iniziano contrazioni ritmiche a sinistra (destra nella fig.). — Fiss. Zenker.; Color. Carminio. — Fotogr. con l'apparato Edinger. Ingr. 14 diam.

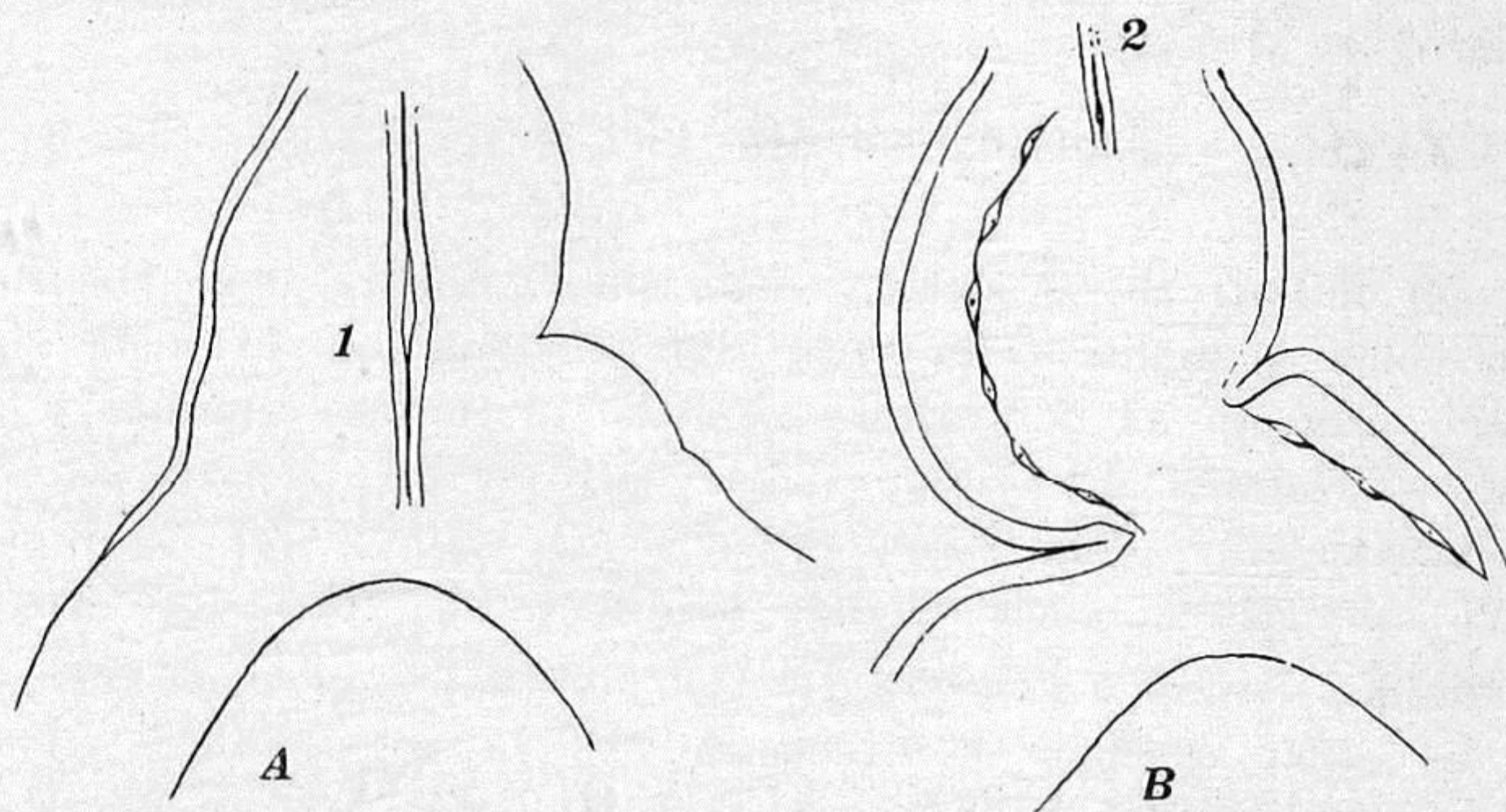


Fig. 5. Embr. CXXVII. A forma del cuore alla 31,30 ora di incub. (8—9 somiti.) 1 mesocardio ventrale. B forma del cuore dopo ore 2½ di coltura in vitro, 2 resti del mesocardio ventrale. Nei tratti dove è disegnato, l'endotelio visto di profilo era nettamente apprezzabile. Disegno fatto alla camera lucida. Ingr. 40 diam. circa.

Dopo un'ora e $1/2$ si osserva un residuo del mesocardio ventrale limitato alla parte più craniale del tubo cardiaco, vedi fig. 5 B. Le contrazioni delle due metà si sono fatte sincrone. Indipendentemente da esse si sono iniziate contrazioni ritmiche più frequenti nella vena onfalomesenterica sinistra.

Dopo un'ora, immerso per $1/2$ minuto in soluzione isotonica di cloruro di calcio, continua a pulsare ritmicamente, la diastole è diventata molto lenta.

Immerso per 3 minuti in soluzione di cloruro di calcio, il tubo cardiaco resta contratto e non pulsa più ritmicamente. Esaminata tutta la parete cardiaca con obiettivo ad immersione non si scorge alcuna contrazione fibrillare.

Dopo 5 minuti dall'ultimo trattamento col cloruro di calcio riprende a pulsare debolmente, ma ritmicamente, con diastole lentissima e incompleta.

Sulle sezioni seriali il tubo endoteliale è unico nella porzione media del cuore, presenta ancora un sepimento mediano nella parte più craniale. Nel mantello mioepicardico è scomparsa ogni traccia del mesocardio ventrale, dorsalmente invece il tubo endoteliale è ampiamente in contatto colla parete intestinale per la notevole distanza che separa le due pieghe della somatopleura. Minuta struttura: il mantello mioepicardico ha caratteri molto simili a quelli descritti nell'embrione CXXVI (vedi pag. 436). Però i limiti cellulari sono un poco meglio apprezzabili e sono rarissime le fessure intercellulari esistenti nello spessore della parete. Queste fessure sono ampie ed esistono fra tutte le cellule contigue soltanto in una piccola zona che segna il passaggio alla somatopleura; gli elementi della somatopleura si differenziano nettamente perchè presentano verso l'epitelio intestinale prolungamenti liberi. La superficie interna del mantello mioepicardico è quasi perfettamente liscia ed ha un decorso lievemente ondulato (le ondulazioni hanno un raggio di curvatura grande). La superficie esterna presenta delle piccole rilevatezze globose dovute a una lieve sporgenza del corpo delle singole cellule. Neanche in questo embrione non si osservano miofibrille.

Sistema nervoso: la doccia midollare è aperta a partire dalla 9ª coppia di somiti, in tutto il resto del neurasse permane la cresta neutrale.

Esp. CV. — Embrione di ore 30 d'incubazione St. 8—9 somiti, tubo cardiaco piccolo comincia a farsi convesso dal lato sinistro, non pulsa e non reagisce a stimoli elettrici.

Dopo 2 ore St. 9 somiti, contrazioni appena percettibili nella metà sinistra dell'abbozzo cardiaco, frequenza 5—6 al minuto. Dopo 10 minuti contrazioni meglio apprezzabili e più ampie, 22 al minuto. Stimolazione faradica con i rocchetti a 5 cm, in $1/2$ minuto si ottengono 15 contrazioni; lo stesso con i rocchetti a 3,5 cm, in mezzo minuto si contano 22 contrazioni: poco dopo contrazioni spontanee normali in $1/2$ minuto 12.

Esp. CXXIV. — Embrione di ore $30\frac{1}{2}$ St. 8—9 somiti, cuore leggermente rigonfio in forma di otricolo, non pulsa.

Dopo 2 ore pulsazioni ritmiche a destra.

Dopo 5 minuti la contrazione con la stessa frequenza si è propagata anche alla metà sinistra; 25 contrazioni al minuto.

Dopo un'ora il tubo cardiaco presenta 45 contrazioni al minuto; la vena onfalomesenterica sinistra si contrae in modo autonomo, 53 contrazioni al minuto.

Dopo 2 ore anche la vena onfalomesenterica destra pulsa ritmicamente, asincronicamente dal resto.

B. Esperimenti fatti su blastodermi raccolti quando già erano iniziate le pulsazioni dell'abbozzo cardiaco.

Esp. CXLVII. — Embrione di ore 29 St. 7 somiti, forma dell'abbozzo cardiaco: tubo assai breve, evidente il mesocardio ventrale.

Esaminando l'area cardiaca con obiettivo a immersione $\frac{1}{7}$ Koristka si osserva in una zona limitatissima, vedi fig. 6 A, contrazioni ritmiche, frequenza 27 al minuto. In tutto il mantello mioepicardico numerose gocce di vitello.

Dopo 1 ora e $\frac{1}{2}$ forma dell'abbozzo cardiaco modificata, vedi fig. 6 B. A destra si osservano 38 contrazioni al minuto più valide visibili anche a medio ingrandimento. A sinistra contrazioni più deboli asincrone, 25 al minuto.

Dopo 1 ora e $\frac{1}{2}$ più profondi i solchi che dividono il tubo cardiaco dalle vene onfalomesenteriche, vedi fig. 6 C; non è più visibile il mesocardio ventrale. Pulsazioni più valide, sincrone, di tutto l'abbozzo cardiaco, 51 al minuto.

Dopo 4 ore il tubo cardiaco mediano continua a pulsare ritmicamente e sincronicamente; contrazioni ritmiche asincrone si sono iniziate nel tratto

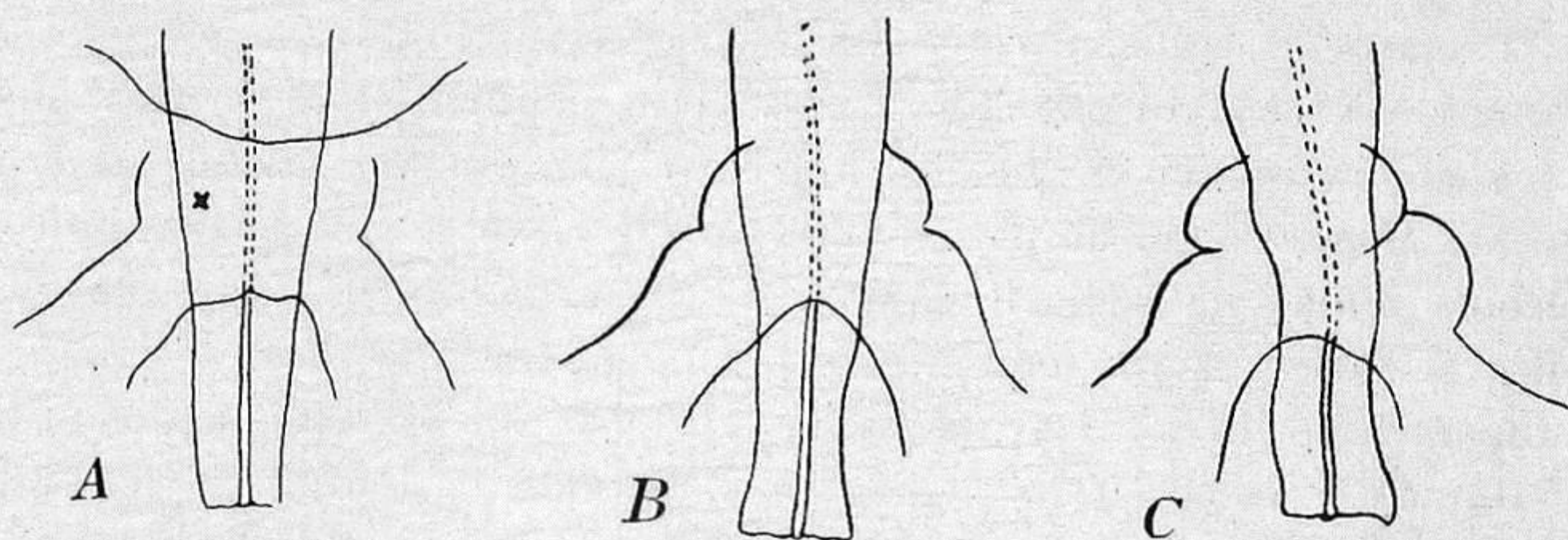


Fig. 6. Embr. CXLVII, raccolto alla 29^a ora d'incub. St. 7 somiti, fatto sviluppare ulteriormente in vitro. — A. Zona cardiaca alla 29^a ora d'inc. *x* regione piccolissima in cui si osservano contrazioni ritmiche. — B. Dopo 1 $\frac{1}{2}$ ora di coltura. Contrazioni asincrone delle due metà dell'abbozzo cardiaco. — C. Dopo 1 $\frac{1}{2}$ ora di coltura. Pulsazioni più valide e sincrone di tutto il cuore. Disegni tratti da fotogr. fatte con l'app. Phoku. Ingr. 40 diam. (rid. a $\frac{3}{4}$).

iniziale della vena onfalomesenterica sinistra, esse hanno frequenza maggiore di quelle del tubo cardiaco mediano.

Esp. 149. — Embrione di ore 28 St. 8 somiti, abbozzo cardiaco in forma di breve cono; una netta incisura lo separa dalle vene onfalomesenteriche, vedi fig. 7, appena raccolto presenta contrazioni ritmiche valide, sincrone, di tutto il tubo cardiaco, frequenza 30 al minuto.

Esp. 151. — Embrione di ore 28 St. 8—9 somiti, abbozzo cardiaco piccolo conico e diviso da un'incisura dalle vene onfalomesenteriche. Persiste il mesocardio dorsale. Contrazioni valide asincrone delle due metà cardiache; frequenza maggiore a sinistra.

Esp. CIX. — Embrione di ore 31 St. 9 somiti, abbozzo cardiaco pulsante, 36 contrazioni al minuto, sincrone sui due lati, il ritmo non è molto regolare, per lo più le contrazioni si manifestano a coppie.

Dopo un'ora St. 9—10 somiti, 49 contrazioni al minuto. Dall'esame delle sezioni seriali trasversali si rileva: tubi endoteliali fusi soltanto in un breve

segmento dell'abbozzo cardiaco, in tutto il resto presentano numerosi sepimenti. Non vi è più traccia di mesocardio ventrale; dorsalmente le due pieghe della somatopleura sono fra loro ancora abbastanza distanti, vedi fig. 8. Mantello mioepicardico, vedi fig. 9, è piuttosto sottile, costituito per quasi tutta l'estensione da uno strato unico di cellule, le cellule sono di forma prismatica, tra le loro faccie contigue vi sono numerose fessure, chiuse in corrispondenza delle superfici interna ed esterna per la saldatura reciproca delle cellule in corrispondenza dei loro spigoli. Condrioma sotto forma di brevi filamenti sinuosi molto numerosi; nel citoplasma numerose grosse gocce di vitello. Non si notano miofibrille.

Sistema nervoso: Doccia midollare aperta a partire dalle sezioni inferiori dell'abbozzo cardiaco in giù.

Esp. CXXV. — Embrione di ore 30 e $\frac{3}{4}$ St. 9 somiti, abbozzo cardiaco rigonfio nella parte di mezzo, diviso mediante un solco dalle vene onfalomesenteriche, pulsazioni 38 al minuto.

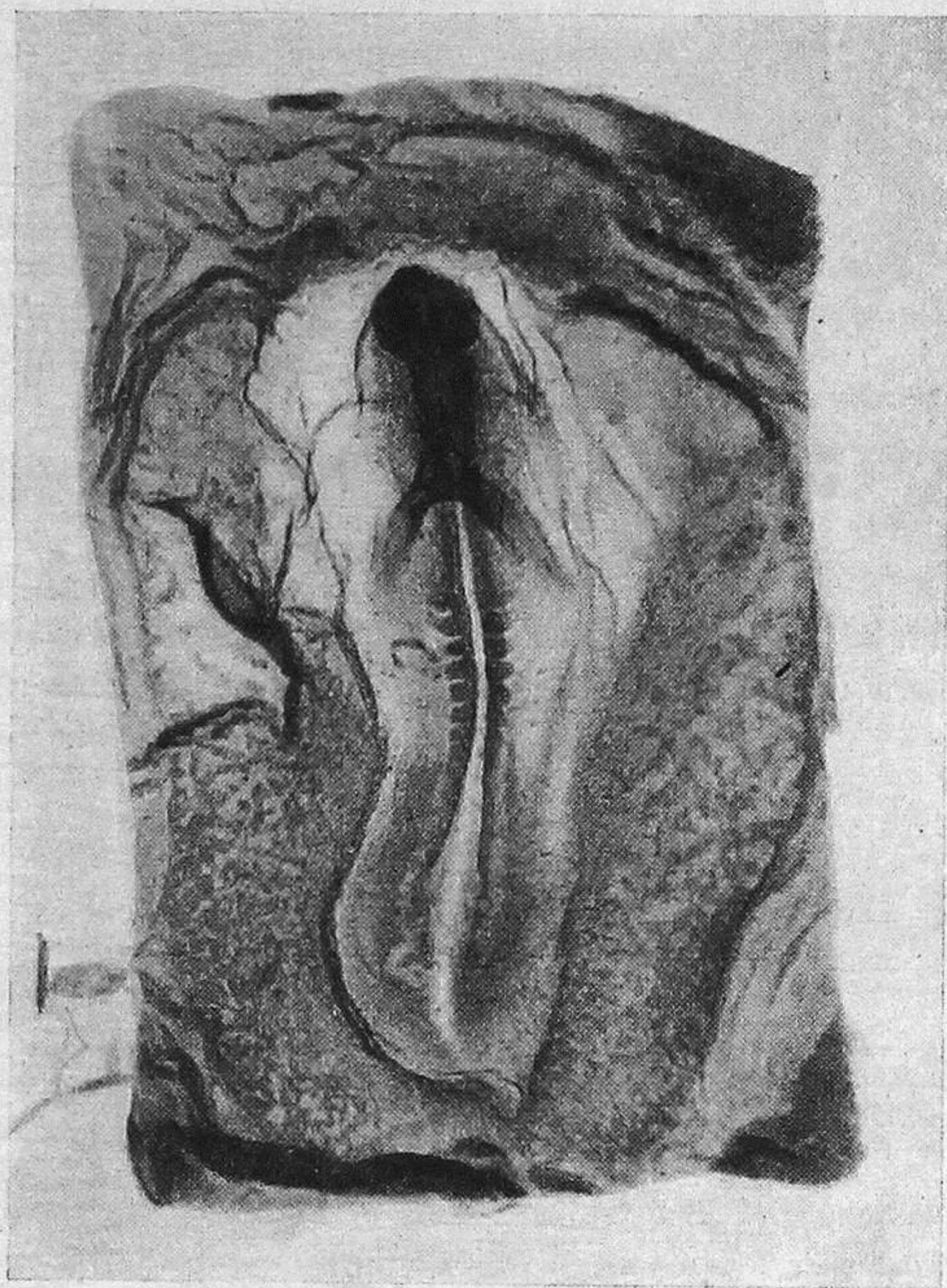


Fig. 7. Embr. 149, raccolto alla 28^a ora d'inc.; St. 8 somiti, già pulsante. Fiss. Zenker, Color. Carminio, Fotogr. con l'app. Edinger. Ingr. 14 diam.

Esp. CXLIV. — Embrione di ore 30 e $\frac{1}{2}$ St. 9 somiti, abbozzo cardiaco pulsa ritmicamente, 27 contrazioni al minuto, più valide a destra.

Abbassando la temp. a 25°, dopo 2 min. 24 contraz. al min.

„ 10 „ 21 „ „ „

„ „ „ „ 15° il cuore si arresta.

Dal preparato fissato e colorato in toto: tubo cardiaco di forma conica, con profonda incisura sul lato destro e incisura appena accennata sul lato sinistro.

Esp. CLVI. — Embrione di ore 28 d'incubazione, St. 9 somiti, cuore lievemente rigonfio nella parte di mezzo, pulsa ritmicamente, 14 pulsazioni al minuto.

Immerso per 5 minuti in soluzione di cloruro di calcio: dopo qualche minuto contrazioni ritmiche sinergiche poco valide di tutto il cuore; 6 contrazioni



Fig. 8. Embr. CIX 31 ore d'incub, 9—10 somiti, abb. cardiaco già pulsante, coltivato 1 ora in vitro, 9—10 somiti. Sezione trasversale condotta a livello del terzo medio del tubo cardiaco. Fiss. Maximow, Col. Emat. ferr. Ingr. 350 diam.

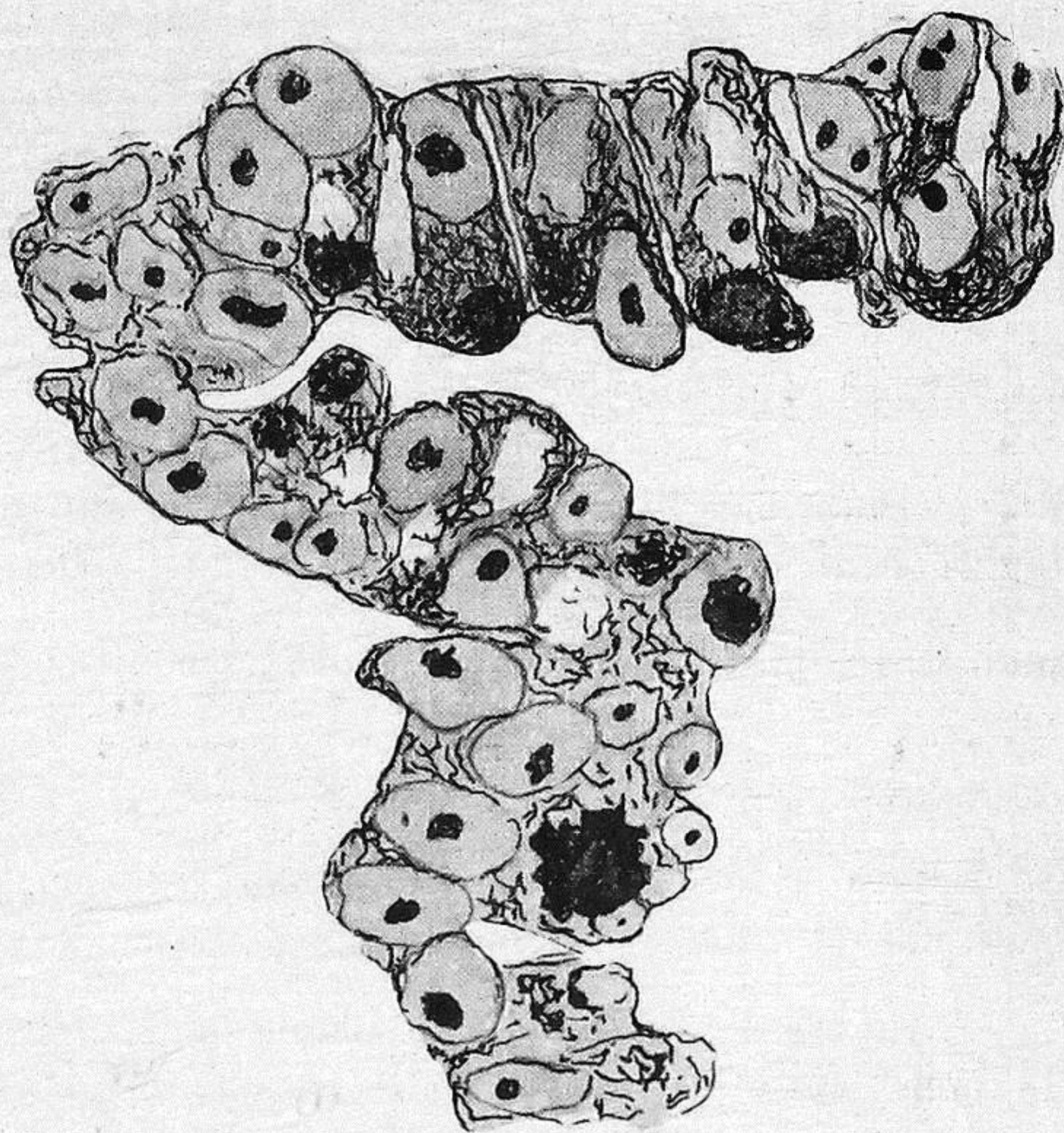


Fig. 9. Embr. CIX, 31 ore d'incub., 9—10 somiti. Sez. trasversale del mantello mioepicardico già pulsante. Fiss. Maximow, Color. Emat. ferr. Ingr. 1275 diam

al minuto. La contrazione è rapida, la decontrazione è lentissima, non si notano contrazioni dissociate.

Dall'esame delle sezioni seriali trasversali si rileva che il mantello mioepicardico è costituito da uno strato unico o doppio di cellule prismatiche con caratteri citologici simili a quelli descritti nell'embrione CIX (vedi pag. 440) che non ripeterò, vedi fig. 9; neanche in questo embrione non si vedono miofibrille.

Sistema nervoso: Doccia midollare aperta a partire dalla settima coppia di somiti.

Esp. CIV. — Embrione di ore 35 d'incubazione St. 9—10 somiti, abbozzo cardiaco in forma di Y rovesciato, spostato lievemente verso destra.

Contrazioni ritmiche regolari 24 al minuto.

Mediante stimolazione faradica con i rocchetti a 3 cm si ottengono 35 contrazioni in mezzo minuto.

Una sola scossa di corrente indotta di apertura, con i rocchetti a 2 cm determina un'acceleramento nel ritmo che dura per parecchi secondi.

Esp. CVIII. — Embrione di ore 29 e $\frac{1}{2}$ St. 9—10 somiti. L'abbozzo cardiaco pulsa ritmicamente.

Esp. CX. — Embrione di ore 32 d'incubazione, St. 10 somiti, abbozzo cardiaco in forma di tubo piuttosto lungo, lievemente incurvato, presenta contrazioni ritmiche valide peristaltiche che s'iniziano in prossimità delle vene onfalomesenteriche, 38 contrazioni al minuto.

Effetto della stimolazione faradica

con i rocchetti a 6 cm	in $\frac{1}{2}$ min.	contraz.	21
5 "	" $\frac{1}{2}$ "	"	22
4 "	" $\frac{1}{2}$ "	"	23
3 "	" 15 sec.	"	16
2 "	" 15 "	"	16

Stimolando con i rocchetti a 3 cm e 2 cm, le contrazioni sono molto ravvicinate all'inizio e poi vanno diradando sempre più.

Esp. CLIV. — Embrione di ore 28 d'incubaz. St. 10 somiti, tubo cardiaco allungato, un poco rigonfio nella parte di mezzo, lievemente spostato verso destra. Contrazioni ritmiche peristaltiche 25 al minuto.

Trattato con cloruro di calcio si hanno ancora 15 pulsazioni ritmiche al minuto; la contrazione è rapida, la decontrazione è diventata lenta; in corrispondenza del margine destro della parete cardiaca si osservano contrazioni fibrillari limitate a una piccola zona di essa, tali contrazioni sono dirette in senso normale all'asse del tubo cardiaco.

Esp. CIII. — Embrione di ore 34 d'incubaz. St. 10—11 somiti, abbozzo in forma di Y, il tubo mediano breve un poco ricurvo a convessità rivolta verso destra. Contrazioni spontanee 25 al minuto.

Colpi di corrente indotta di apertura con i rocchetti sino a cm $3\frac{1}{2}$ sono senza effetto. Avvicinando maggiormente i rocchetti dopo ogni scossa il ritmo cardiaco resta accelerato per alcuni secondi.

Stimolando il cuore con 12 colpi di corrente indotta di apertura, rocchetti a 2 cm, a intervalli regolari di 5 sec. uno dall'altro, si ottengono 58 contrazioni in un minuto. Dopo pochi secondi contrazioni spontanee, 24 al minuto.

Effetto della stimolazione faradica:

Rocchetti alla dist. di	15	cm	in	$\frac{1}{2}$	min.	13	contraz.
Avvicinando i rocchetti sino							
alla distanza di	7	"	"	$\frac{1}{2}$	"	13	"
Rocchetti alla dist. di	6	"	"	$\frac{1}{2}$	"	15	"
" " " "	5,5	"	"	$\frac{1}{2}$	"	16	"
" " " "	5	"	"	$\frac{1}{2}$	"	17	"
" " " "	4,5	"	"	$\frac{1}{2}$	"	28	"
Contrazioni spontanee				"	$\frac{1}{2}$	13	"
Rocchetti alla dist. di	4	"	"	$\frac{1}{2}$	"	28	"
" " " "	4	"	"	$\frac{1}{4}$	min.	16	"

Esp. LXII. — Embrione di ore 37 d'incubaz. St. 10—11 somiti, cuore in forma di tubo leggermente ricurvo, pulsazioni peristaltiche 40 al minuto.

Immerso ripetutamente per più 10 minuti in soluzione isotonica di cloruro di calcio continua a pulsare peristalticamente. Nelle parti laterali del tubo cardiaco si osservano contrazioni dissociate abbastanza vivaci.

Sulle sezioni trasversali del blastoderma fissato in Flemming si osserva che il mantello mioepicardico ha la forma di un tubo notevolmente schiacciato in senso sagittale, non vi è più traccia del mesocardio ventrale. I due foglietti del mesocardio dorsale sono notevolmente vicini presso la linea mediana; i tubi endoteliali sono incompletamente fusi. La parete mioepicardica, sottile nella parte ventrale, più spessa nella parte dorsale, è costituita da cellule disposte in due o più strati, di forma prismatica, che in alcuni punti hanno disposizione embricata. Condrioma scarso senza orientazione speciale. Nelle porzioni dorsali e laterali della parete cardiaca vi sono numerose lunghe miofibrille lisce, rettilinee, tese alla superficie delle cellule, parallelamente alla superficie dell'organo tanto vicine alla superficie interna che vicine alla esterna. Se ne osserva in tutte le sezioni (spessore 5 μ) però nello stesso tratto di parete non se ne osserva per lo più che una o due e, in qualche brevissimo segmento, tre disposte parallelamente.

Sistema nervoso: Doccia midollare aperta a partire dalla parte caudale dell'abbozzo cardiale.

Esp. LX b. — Embrione di ore 33 $\frac{1}{2}$ St. 11 somiti, tubo cardiaco lievemente incurvato, pulsazioni ritmiche peristaltiche regolari. Trattato col calcio presenta contrazioni fibrillari intense e vivaci diffuse a tutto il tubo cardiaco.

Sulle sezioni seriali trasversali: tubo cardiaco di forma ovalare, spostato verso destra, mesocardio ventrale scomparso, le due lamine che formano il mesocardio dorsale si trovano a mutuo contatto; tubi endoteliali fusi. Mantello mioepicardico formato da cellule allungate, disposte in più strati, con asse maggiore diretto tangenzialmente o con forte obliquità rispetto alla superficie cardiaca. Le miofibrille situate alla superficie delle cellule ne rendono più evidenti i limiti, esse decorrono parallelamente e obliquamente alla superficie cardiaca, alcune sono molto sottili e lisce, altre sono notevolmente più grosse e trasversalmente striate.

Esp. CXXIII. — Embrione di ore 31 St. 11 somiti, tubo cardiaco molto dilatato in senso trasversale, sulla linea mediana nella sua faccia ventrale si nota un seipimento che la percorre in tutta la lunghezza. Le due metà del cuore pulsano asincronicamente, a destra 29 contrazioni al minuto, dicrote, a sinistra 41 contrazioni al minuto, più valide che a destra di cui soltanto qualcuna è dicrota. Abbassando la temperatura la metà destra del cuore sospende le contrazioni più facilmente della metà sinistra.

Sulle sezioni seriali: tubo cardiaco cilindrico nella parte alta, fortemente schiacciato in senso sagittale nella porzione caudale, vedi fig. 10; ventralmente sulla linea mediana persiste un peduncolo di tessuto che si segue in tutte le sezioni, è una rilevatezza in forma di cresta, residuo del mesocardio ventrale; dorsalmente le due pagine del mesocardio dorsale sono abbastanza vicine, tubi endoteliali completamente divisi per tutta la lunghezza dell'organo. Il mantello mioepicardico è piuttosto sottile, esso è costituito da uno o due strati di cellule prismatiche o allungate, ricche di condrioconti lunghi e sinuosi, orientati secondo l'asse cellulare. Il tessuto è molto compatto nelle parti dorsali, nella parte ventrale invece, specialmente vicino ai resti del mesocardio, le cellule sono per-

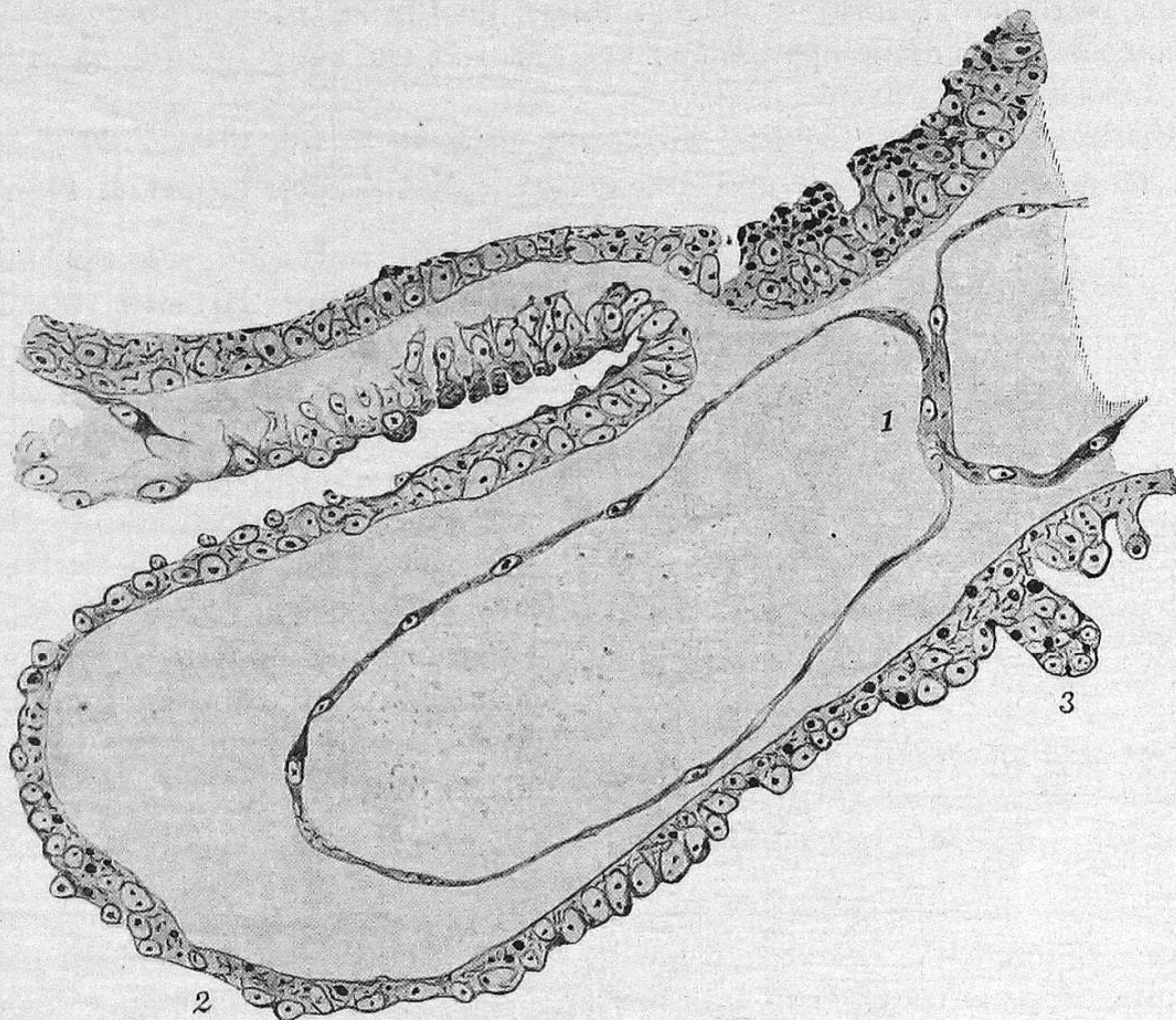


Fig. 10. Embr. CXXIII, ore d'incub. 31, 11 somiti. Sezione trasversale della parte inferiore del tubo cardiaco. 1 tubi endoteliali ancora pari, 2 mantello mioepicardico, 3 resti del mesocardio ventrale. Fiss. Maximow. Color. Emat. ferr. Ingr. 350 diam.

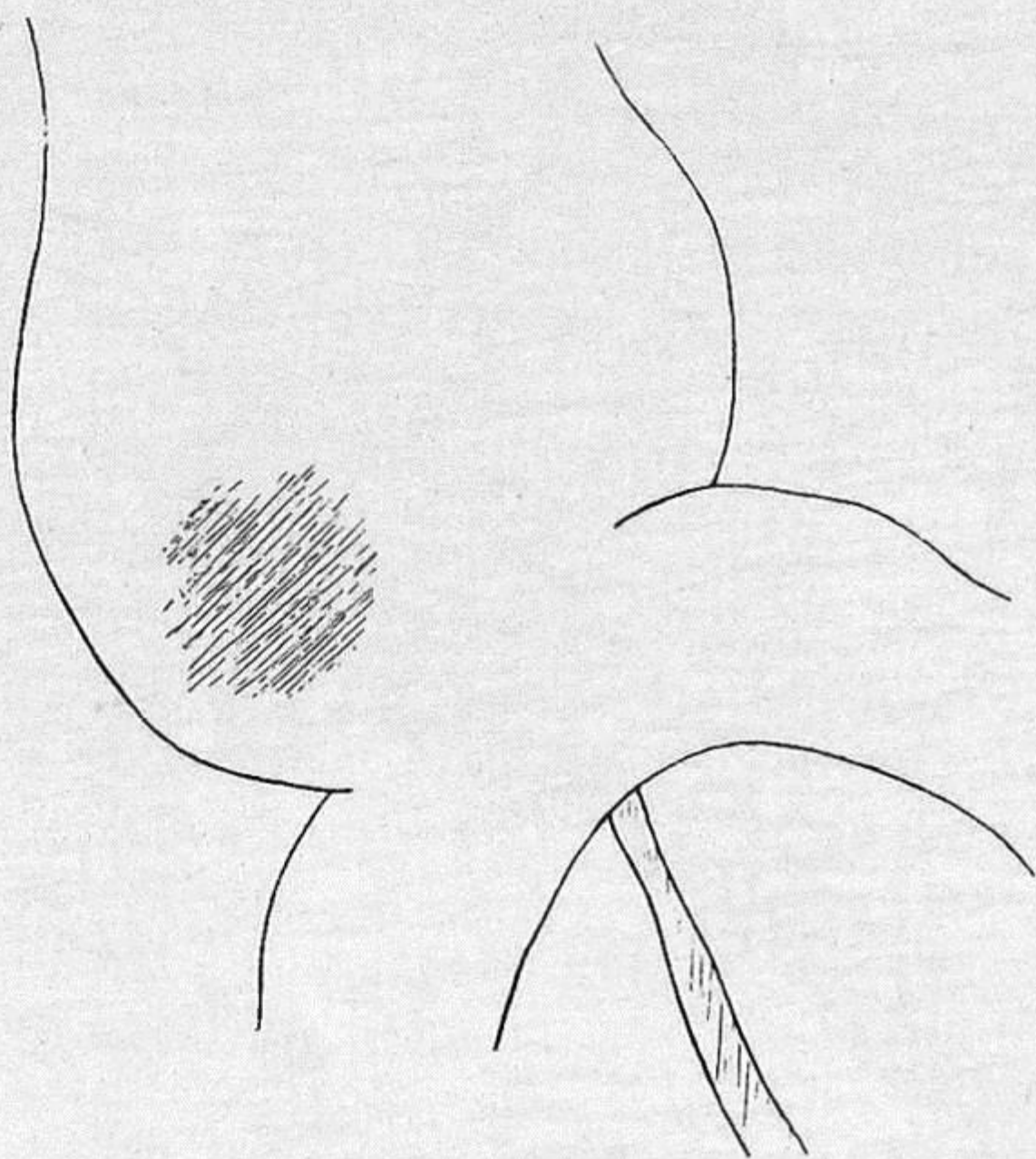
fettamente a contatto reciproco verso la superficie interna; esternamente invece (vedi nella fig. 10 la parte a sinistra del mesocardio) sono divise da profonde fessure. Non si osservano miofibrille.

Esp. CLV. — Embrione di ore $28\frac{1}{2}$ d'incubaz., St. 11 somiti. Raccolto in soluzione di cloruro di calcio: il tubo cardiaco dilatato nella parte mediana, presenta contrazioni ritmiche, 21 al minuto; in una zona limitata, v. fig. 11, si notano contrazioni dissociate.

All'esame delle sezioni seriali trasversali si osserva: tubo cardiaco di forma ovalare, nelle sezioni di mezzo è deviato verso destra, non vi è traccia di mesocardio ventrale, i due foglietti del mesocardio dorsale si avanzano sulla

linea mediana lasciando ancora scoperto un certo tratto del tubo endoteliale. Tubo endoteliale unico fortemente collabito. La parete mioepicardica di aspetto molto compatto è costituita in prevalenza da un doppio strato di cellule allungate, disposte obliquamente. Tra le singole cellule, qua e là, sottili fessure. Per essere il preparato poco differenziato in allume, il citoplasma dei mioblasti è di color grigio piuttosto intenso e il condrioma è poco evidente. In un numero limitato di sezioni vicine, della parte caudale del tubo cardiaco, sul lato destro, si notano alcune rade, tenuissime fibrille omogenee, disposte parallelamente alla superficie dell'organo e che sorpassano ininterrotte un numero vario di cellule. Vedi fig. 12. Fatta la ricostruzione plastica di questo abbozzo cardiaco, segnando i tratti in cui vi erano miofibrille, si constata che la loro sede coincide con grande approssimazione alla zona in cui si erano notate contrazioni dissociate nel vivente.

Sistema nervoso: Persiste la cresta neurale a livello dell'abbozzo cardiaco; la doccia midollare è aperta a partire dalla seconda coppia di somiti.



Ho tralasciato di riportare gli esperimenti fatti su altri 15 embrioni allo stadio tra i 9 e i 12 somiti, perchè non sono che una ripetizione di quelli riferiti. In tutti l'abbozzo cardiaco era già pulsante al momento in cui si raccolsero, e i risultati ottenuti con gli eccitamenti elettrici e chimici furono gli stessi di quelli riportati. Tralascio pure di riferire gli esperimenti fatti su embrioni più inoltrati perchè di minore interesse per l'argomento trattato.

Fig. 11. Embr. CLV, ore $28\frac{1}{2}$ d'incub., St. 11 somiti. Forma dell'abbozzo cardiaco; nella zona tratteggiata si osservano contrazioni dissociate per azione del clor. di calcio. Dis. fatto alla camera lucida dal vivente. Ingr. circa 50 diam.

C. Esperimenti sulla sincronicità nelle contrazioni di frammenti di cuore coltivati in vitro.

È noto, e io stesso lo potei osservare in moltissime colture, come i singoli frammenti di uno stesso cuore d'embrione, coltivati in vitro continuino a pulsare ognuno con ritmo regolare, ma con frequenza diversa. Non infrequentemente si osserva che anche le varie parti di uno stesso frammento hanno frequenza diversa. Quest'ultima eventualità è più frequente negli espianti di cuore meno progrediti nello sviluppo (3° e 4° giorno d'incubazione) e soprattutto negli espianti di atrio. Queste osservazioni le feci sempre su colture in cui il plasma, senz'essere diluito con soluzione di Tyrode, era disteso in strato sottilissimo.

Per lo più i ritmi delle singole parti sono regolarissimi (contrazioni a intervalli sempre uguali) e la loro assoluta indipendenza è dimostrata dai rapporti più disparati esistenti fra il numero delle loro contrazioni per minuto. In altri casi, non frequenti, vi è una chiara interdipendenza tra le contrazioni

.di due segmenti, in quanto il numero di contrazioni di uno è un multiplo del numero dell'altro, interdipendenza che è dimostrata anche meglio dall'effetto della temperatura e del taglio, come per es. nell'esperimento 215.

Esp. 215: Espianto di atrio, g. 7 d'incubazione; *a* e *b* parti dello stesso espianto con frequenza diversa.

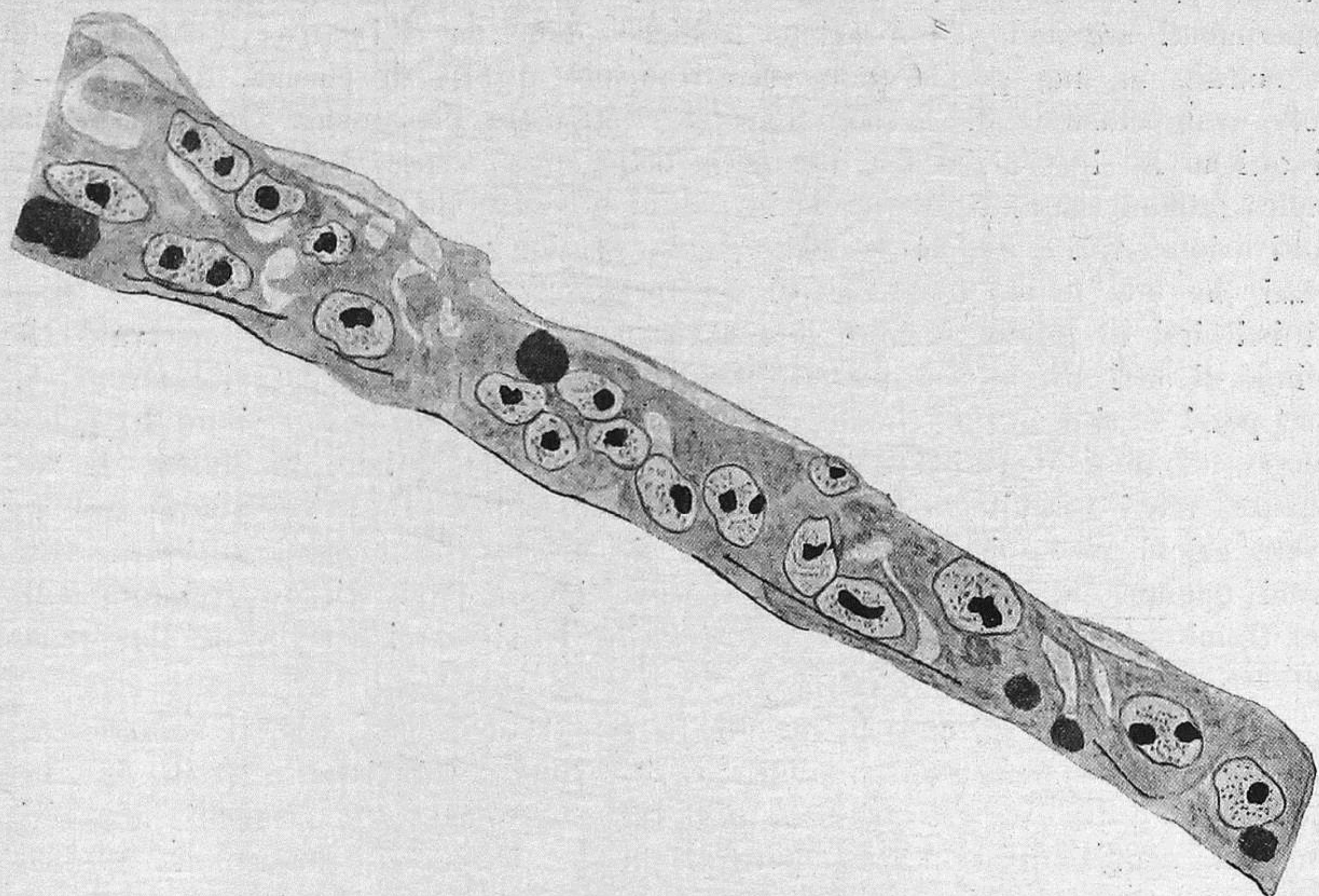


Fig. 12. Embr. CLV, ore 28½ d'incub.; St. 11 somiti. Sezione trasversale del mantello mioepicardico in corrispondenza della zona che presentava contrazioni dissociate per azione del calcio. Fiss. Maximow, Color. Emat. ferr. Ingr. 1275 diam.

ore di coltura	temp.	N. di contraz. al min. della parte <i>a</i>	N. di contraz. al min. della parte <i>b</i>	Rapporto tra il num. di contrazioni di <i>a</i> e di <i>b</i>
30	38 °	72	36	2 : 1
"	c. 35 °	68	30 ritmo irregolare ¹⁾	2,28 : 1 ¹⁾
"	c. 30 °	54		3 : 1
"	c. 25 °	42		3 : 1
46	38 °	94	94	1 : 1
<i>a</i> , <i>b</i> , vengono divisi con un taglio netto per mezzo del micromanipolatore				
46	38 °	92	56	1,64 : 1 ²⁾
47	38 °	72	68	1,06 : 1

L'eventualità che le pulsazioni asincrone delle varie parti di un'espianto diventino sincrone come nell'esperimento 215 è piuttosto rara, all'opposto è

1) Le contrazioni di *b* avvengono ad intervalli ineguali, a volte dopo due, a volte dopo tre contrazione di *a*, ma sempre subito dopo una contrazione di *a*.

2) Tanto *a* quanto *b* hanno un ritmo regolarissimo, perciò le loro contrazioni interferiscono in modo sempre diverso.

più frequente il caso contrario, che cioè espianti con contrazioni globali sinergiche, si suddividano dopo un periodo prolungato di coltura in centri autonomi di contrazione sempre più circoscritti.

Un'interessante esperimento di A. Fischer (1924—25) dimostrò che si può ottenere l'unità funzionale anche tra pezzi diversi ponendoli vicini nel plasma, quando per l'accrescimento dei due espianti essi arrivano a contatto. Ripetei questi esperimenti seguendo l'indicazioni tecniche date da Fischer, cioè facendo le colture in una goccia, non eccessivamente distesa di plasma, diluito 3—4 volte con soluzione di Tyrodé, e potei confermare pienamente che con facilità si ottiene la sincronicità fra due pezzi dello stesso cuore, o di cuori diversi, di pollo; ottenni risultato favorevole in più di un terzo di casi dopo un periodo di coltivazione vario da 24 a 96 ore. La fusione avviene più facilmente tra pezzi che non hanno frequenza di contrazione troppo diversa. Quanto al modo di istituirsi di questa fusione essa avviene per gradi. Spesso ho osservato che prima di arrivare a una perfetta regolarità e sincronicità del ritmo uno dei due pezzi e cioè quello che ha frequenza minore, presenta un ritmo irregolare (dopo un numero vario di contrazioni sincrone col primo diminuisce di frequenza) ma in seguito la sincronicità diventa assoluta. Poca importanza possono avere azioni meccaniche; quasi sempre si osserva che i pezzi adiacenti asincroni quando pulsano validamente si comprimono e si stirano reciprocamente per tramite del plasma senza che la regolarità del ritmo di nessuno dei due venga turbata.

Quando si è istituita la fusione funzionale dei due pezzi, il contatto del tessuto cardiaco può essere limitato a una zona assai ristretta (vedi fig. 13) mentre in tutto il resto si ha una fessura colmata da elementi migranti. In tali condizioni i pezzi mantenuti a temperatura costante di 38—39° sono perfettamente sincroni e non è apprezzabile all'ispezione un ritardo nella contrazione di un pezzo sull'altro. Però abbassando la temperatura del preparato si vede distintamente che un pezzo si contrae con ritardo rispetto all'altro; il ritardo diventa maggiore con l'ulteriore decrescere della temperatura, in seguito uno dei pezzi non si contrae più dopo tutte le contrazioni del vicino e il suo ritmo si fa irregolare. A temperatura più bassa ancora esso si contrae regolarmente dopo ogni seconda e a volte dopo ogni terza contrazione dell'altro sino a fermarsi. La sincronicità può esser pure rotta da innalzamenti di temperatura. Vedi esp. che segue:

Esp. 1841 — (*a* e *b* frammenti dello stesso cuore di 6 g. d'incubazione).

Età della coltura in ore	temp.	N. di contraz. per min. di <i>a</i>	N. di contraz. per min. di <i>b</i>
2	39°	86	53
24	39°	92	54
48	39°	84	84
48	25—30°	56	28 (NB. = $56/2$)
48	c. 20°	47	cessa di pulsare
48	40°	132	attività periodica irregolare
50	39°	82	82

Questa labilità della sinergia di funzione di fronte alle variazioni di temperatura, che è massima nelle prime ore in cui si pervenne alla sincroni-

cità, in seguito diventa sempre minore come si può rilevare dai seguenti esperimenti:

Esp. 1881. — Due pezzi dello stesso cuore (ventricolo) di 6 g. d'incubaz. dopo 3 giorni di vita della coltura sono ancora funzionalmente indipendenti. Dopo 5 g. di vita della coltura (secondo passaggio) i due pezzi pulsano sincronicamente alla temperatura di 39° . Abbassando la temperatura si ottiene

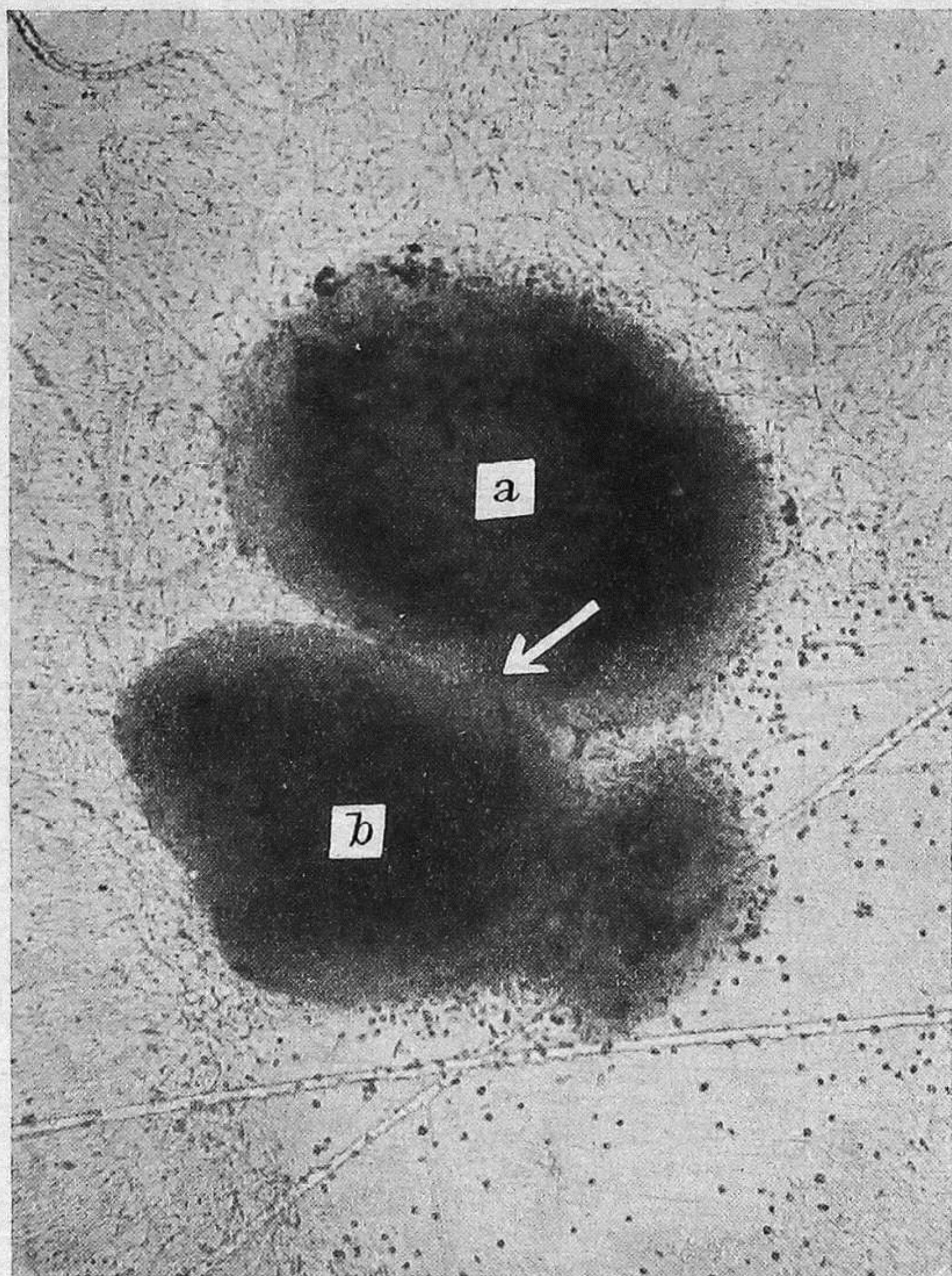


Fig. 13. Esp. 1841. Coltura di due frammenti *a* e *b* di cuore al 6° giorno d'incub. Dopo 48 ore di coltura le contrazioni di *a* e *b* sono divenute sincrone; soltanto in un breve tratto segnato dalla freccia si è fusione tale del tessuto dei due pezzi da non riconoscerne i limiti. Fotogr. dal vivente fatta con l'app. Edinger. Ingr. 40 diam.

prima il ritardo progressivo della contrazione di uno dei pezzi sull'altro e poi contrazioni asincrone analogamente a quanto ho osservato nell'esperimento 1841.

Alla fine del 7° giorno di vita della coltura (3° passaggio) i due pezzi pulsano validamente e sincronicamente, abbassando la temperatura diminuisce la frequenza delle contrazioni in grado eguale nei due pezzi, che pulsano sempre sincroni, e si arrestano contemporaneamente a temperatura molto bassa.

Esp. 1907. — Due pezzi di cuore al 7° g. d'incubazione provenienti da due embrioni di pollo diversi coltivati a mutuo contatto:

Dopo 24 ore: contrazioni indipendenti.

Dopo 48 ore: contrazioni sincrone a 39° che diventano irregolari già per piccole variazioni di temperatura.

Dopo 4 g. (2° passaggio) contrazioni sincrone, ma in modo ancora labile; risultati analoghi a quelli dell'esperimento precedente dopo 5 giorni.

Dopo 6 giorni (3° passaggio) la sincronicità dei due pezzi è divenuta stabile (vedi esperimento precedente alla fine del 7° giorno).

La stimolazione faradica di uno solo dei due pezzi adiacenti determina, sino a un certo limite, un identico aumento di frequenza in tutti e due i pezzi che funzionano sincronicamente, tale aumento invece è limitato al solo pezzo eccitato elettricamente se essi vengono previamente divisi con un taglio (vedi esp. che segue).

Esp. 1840. — Due pezzi di cuore *a* e *b* al 6° giorno di incubazione, coltivati in vitro a mutuo contatto; al 3° giorno di vita della coltura pulsano sincronamente.

Età della coltura in ore	temp.	stimolaz. faradica di <i>a</i> , distanza dei rocchetti in cm	N. di contraz. per 1/2 min. di <i>a</i>	N. di contraz. per 1/2 min. di <i>b</i>
72	39°	—	36	36
"	"	7	38	38
"	"	6	40	40
"	"	5	54	ritmo irregol.
"	"	4 1/2	69	"
"	"	4	ritmo irregol.	"
i pezzi <i>a</i> e <i>b</i> vengono divisi mediante un taglio				
"	39°	—	35	26
"	"	7	36	26
"	"	6	39	26
"	"	5	48	27
"	"	4 1/2	61	27
"	"	4	ritmo irregol.	27

La sinergia di due pezzi distinti stabilitasi in vitro può essere infirmata per mezzo della pressione esercitata sul ponte di tessuto che li unisce.

Esp. 214. — Due pezzi di atrio di giorni 7 d'incubazione. Dopo 48 ore pulsano sincronamente, 83 contrazioni al minuto.

Mediante il micromanipolatore preparai un'ansa sottile di vetro del diam. di circa mm. 1,5 (per la tecnica vedi Péterfi 1924 pag. 491) che portai disposta verticalmente a contatto della linea di unione dei due pezzi. Sollevandola contro il preparato in modo che cominciasse appena ad appiattirsi la sua curvatura osservai che i due pezzi assumevano un ritmo indipendente e ineguale, contraendosi uno 67 e l'altro 45 volte al minuto. Ritirata l'ansa dopo pochi secondi le contrazioni ridiventavano sincrone.

Nell'esercitare una pressione più forte, l'ansa si ruppe e i due pezzi restarono definitivamente asincroni.

Poichè nell'interdipendenza funzionale di pezzi diversi di cuore che si stabilisce in vitro sono di molta importanza i rapporti che si stabiliscono fra gli elementi provenienti dai due diversi pezzi, riferisco ancora il risultato di alcuni esperimenti di microdissezione fatti sui mioblasti migranti nelle colture in vitro, che dimostrano la possibilità che si formino anastomosi tra vari elementi. Si era già dimostrato che le cellule mutilate di una parte del loro citoplasma

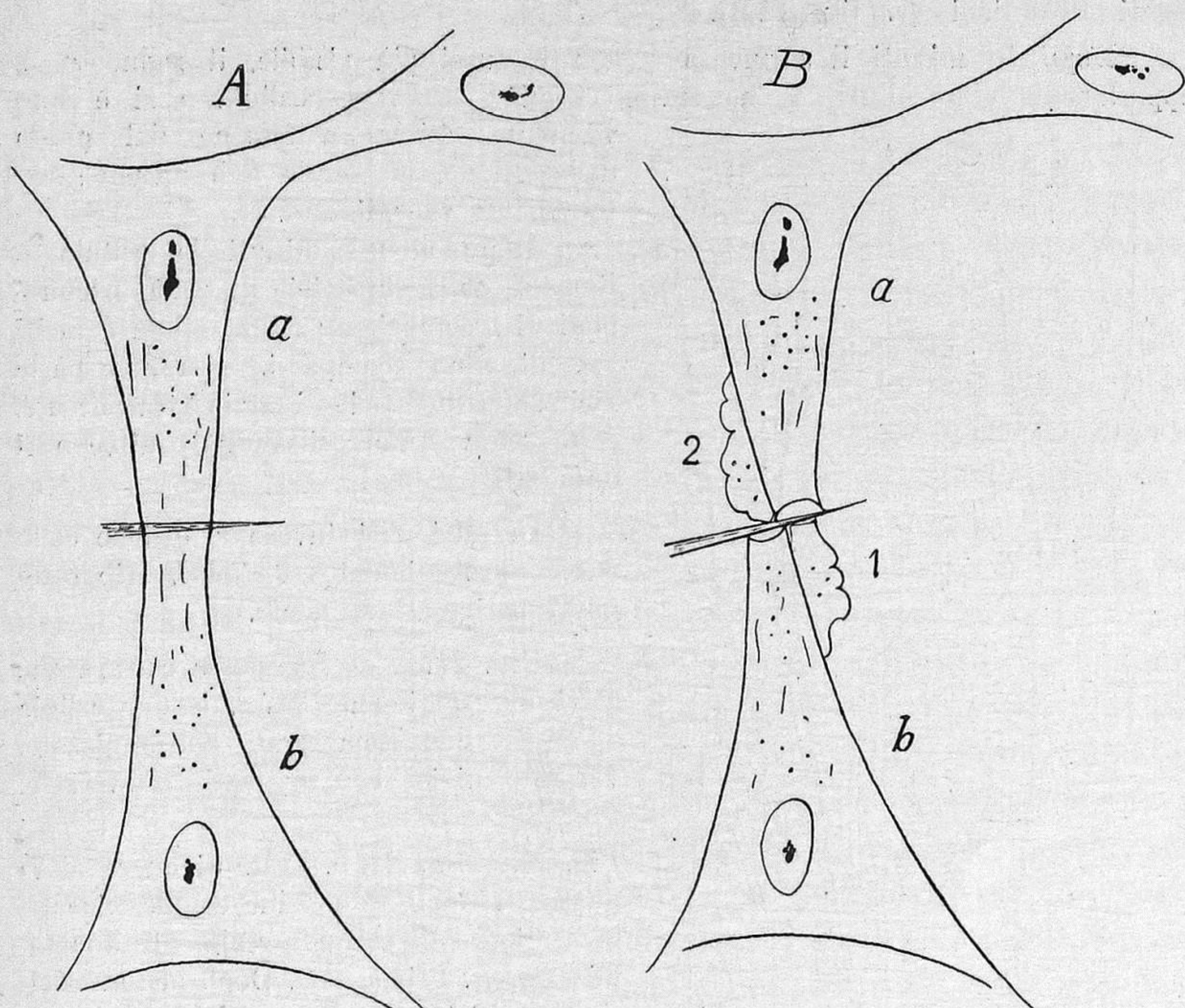


Fig. 14. Esp. 247 a. Coltura di cuore al 7° giorno di incub. *a* e *b* due cellule migrate, alla fine del 5° giorno di coltura, apparentemente anastomizzate. A. Prima della loro divisione artificiale per mezzo del micromanipolatore. B. Le stesse cellule 5 minuti dopo divise trasversalmente con un taglio netto. 1 e 2 porzioni anucleate di citoplasma appartenenti rispettivamente alle cellule *a* e *b* prima del taglio, ora in via di degenerazione.

possono sopravvivere anche a lungo conservando aspetto e proprietà biologiche inalterate, mentre masse di citoplasma anucleate, staccate artificialmente, dopo un certo tempo degenerano. Rifeci esperimenti simili su cellule che all'esame microscopico apparivano anastomizzate. Per mezzo della pressione esercitata con un ago piuttosto lungo e flessibile dividevo con un taglio trasversale le due cellule circa a eguale distanza dai due nuclei. Nel maggior numero dei casi ottenni i risultati dell'esperimento 247a che trascrivo:

Esp. 247a — coltura di cuore di 7 giorni d'incubazione; fine del 5^o giorno di coltura (2^o passaggio) ancora pulsante.

a e *b*, due cellule di aspetto normale apparentemente anastomizzate (v. fig. 14, A); appena divise con un taglio trasversale due linee pallide sopra e sotto il taglio segnano quelli che erano i limiti cellulari, il frammento separato 1 della cellula *a*, emette immediatamente gemme ialine, assume una refrangenza particolare e i minuti granuli in esso contenuti, presentano movimenti Browniani (v. fig. 14B).

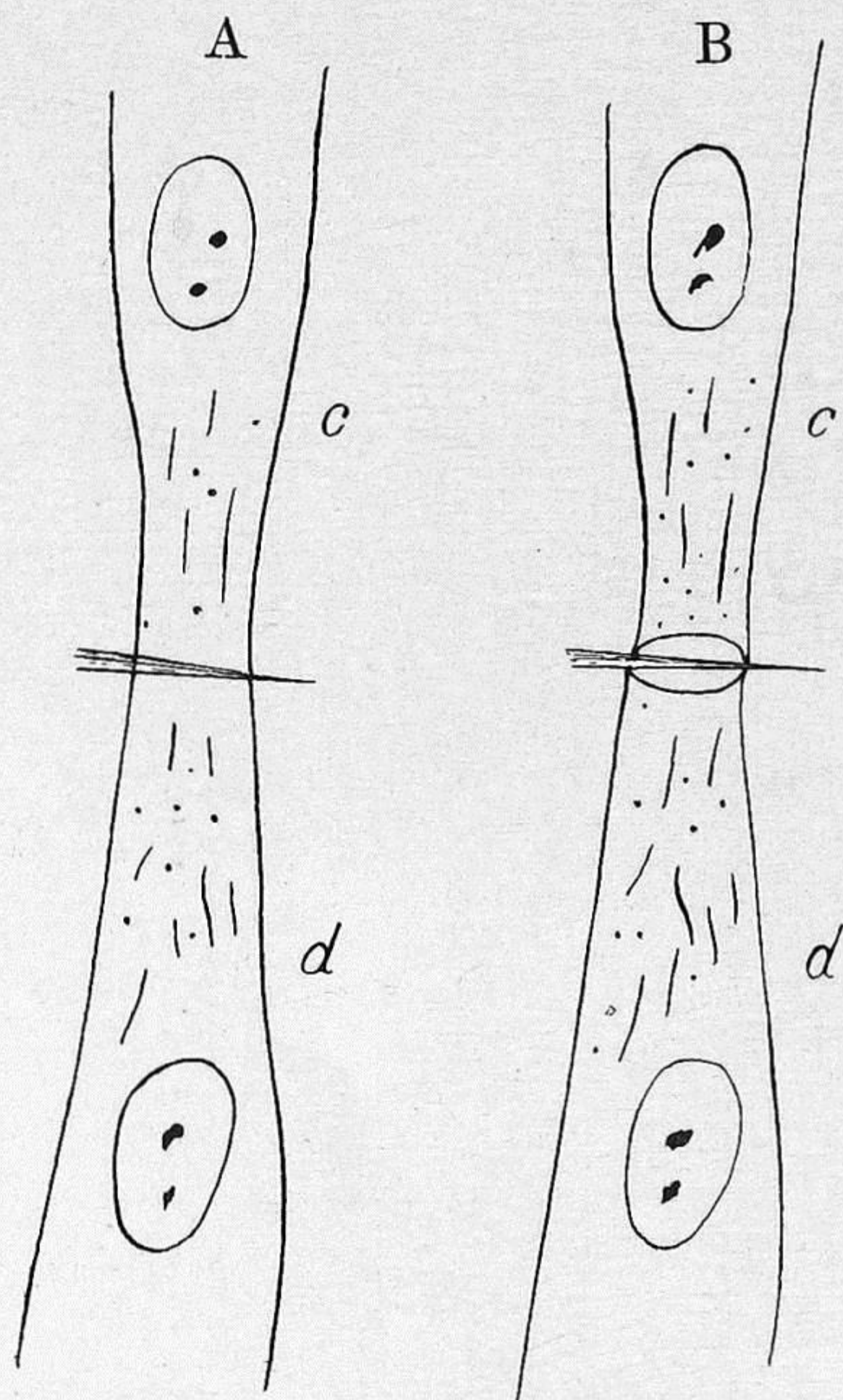
Dopo 10 minuti il segmento 1 non è quasi più visibile, il segmento 2, appartenente alla cellula, *b*, ha emesso gemme ialine; la cellula *a* si è notevolmente ritirata a festone dal punto della lesione, la cellula *b* è fortemente e totalmente vacuolizzata.

Dopo alcuni minuti la cellula *a* riemette dalla superficie di taglio pseudo-podi di locomozione; nella cellula *b* molti vacuoli sono scomparsi. La sua parte vicina alla superficie di taglio è trasparente, e presenta numerosi lunghi mitocondri ondulati.

In altri casi invece si ottiene collo stesso procedimento l'effetto, riportato nell'esperimento seguente.

Esp. 247b. — La stessa coltura che servi all'esperimento 247a, le due cellule *c* e *d*, che sembrano anastomizzate, vengono divise con un taglio trasversale.

Fig. 15. Esp. 247b. Colt. di cuore al 7^o giorno di incub. *c* e *d* due cellule migrate, al 5^o giorno di coltura, realmente anastomizzate, A. Prima e B. Dopo la loro divisione artificiale per mezzo del micromanipolatore.



Subito dopo il taglio *c* e *d* non sembrano modificarsi sensibilmente (v. fig. 15).

Dopo alcuni minuti il bordo delle due cellule in corrispondenza del taglio si ritira a festone.

Dopo circa 15 minuti tanto *c* che *d* riemettono propaggini di locomozione dalla superficie di taglio.

In questi casi si deve trattare di reale continuità citoplasmatica esistente fra le due cellule.

D. Considerazioni.

a) **Momento e modo in cui si iniziano le prime contrazioni cardiache, loro sede e caratteri.**

Il primo quesito che mi proposi fu quello di stabilire il momento preciso in cui si iniziano le contrazioni cardiache. Dalle osservazioni che ho riportato risulta in modo chiaro e assolutamente costante che le prime contrazioni del cuore si iniziano durante la differenziazione della nona coppia di somiti, ed eccezionalmente prima. Soltanto pochi ricercatori moderni, Lillie, Chandler, Whorter e Whipple, M.R. Lewis, Sabin, osservarono le contrazioni allo stadio di dieci, undici somiti e recentemente W. H. Lewis le osservò allo stadio di nove-dieci somiti; la maggior parte degli A.A. invece ammette che esse incomincino soltanto allo stadio di dodici somiti. Non credo che l'aver io osservato delle contrazioni in uno stadio così precoce sia eventualmente da attribuirsi a sviluppo disarmonico dei vari organi, per cui nei miei embrioni la formazione dei somiti sarebbe rimasta arretrata rispetto a quella del cuore; il numero di blastodermi esaminato è relativamente grande, e non trovai un solo embrione che non pulsasse dopo raggiunto lo stadio di nove somiti. Sono quindi convinto che le contrazioni osservate dai vari A.A. e date come le prime contrazioni del cuore, fossero quelle che si hanno un certo tempo dopo iniziata l'attività contrattile, contrazioni già valide, che interessano tutto il tubo cardiaco, e notevolmente resistenti agli agenti nocivi esterni; certamente le primissime contrazioni, assai deboli, parziali come estensione, e sensibilissime agli stimoli esterni (soprattutto alle variazioni della temperatura), devono essere sfuggite agli A.A. che mi precedettero, ed io le potei osservare soltanto in grazia alla tecnica delle colture in vitro che mi consentì, non solo di esaminare l'abbozzo cardiaco in condizioni assai più favorevoli, ma mi permise di sorvegliarlo al microscopio, durante il suo sviluppo, sino a sorprendere se non proprio la prima, una delle primissime contrazioni.

Se Whorter e Whipple, che esaminarono i blastodermi con lo stesso metodo usato da me, scorsero contrazioni soltanto allo stadio di dieci somiti, ciò si deve a che essi esaminarono gli embrioni dal lato dorsale; e io stesso notai in alcuni esperimenti con l'embrione raccolto in quel modo, che le contrazioni cardiache risultavano percettibili, come spostamento di un'ombra, soltanto quando erano già abbastanza valide, quindi quando si erano istituite da parecchio tempo.

Assai più interessante del puro dato cronologico è precisare il modo di iniziarsi dell'attività contrattile, e lo stato di evoluzione morfologica e strutturale dell'abbozzo cardiaco in tale momento. In quanto alle primissime contrazioni ho potuto precisare che queste sono dapprima circoscritte a una zona estremamente piccola di parete cardiaca, forse è un unico mioblasto che si contrae (v. Esp. CLII, CXLVII) e stira ritmicamente gli elementi adiacenti; per rintracciarla bisogna continuare a scorrere pazientemente al microscopio a ingrandimento piuttosto forte tutta l'area cardiaca. Dopo le prime osservazioni in cui mi accorsi delle contrazioni quando erano già abbastanza valide, mi servì di guida il fatto che la sede di tale contrazione è abbastanza costante; di solito la si osserva nella parte più dilatata del tubo cardiaco, più frequentemente sul lato sinistro che sul destro. Su 14 casi in cui potei osservare la contrazione ancora unilaterale dell'abbozzo cardiaco, nove volte l'osservai a sinistra e cinque a destra; il lato opposto, quasi costantemente, comincia a contrarsi poco dopo il primo, in modo affatto indipendente¹). Rapidamente una quantità sempre maggiore di mantello mioepicardico acquista la capacità funzionale, e in tal modo le prime contrazioni appena percettibili e di effetto del tutto locale diventano sempre più ampie e più valide e incominciano a essere in grado di ridurre realmente il lume del tubo cardiaco e a far oscillare ritmicamente in senso trasversale i margini laterali dell'abbozzo cardiaco.

Risulta quindi da queste osservazioni che la funzione cardiaca si istituisce gradualmente ed è certo che nelle prime ore l'effetto meccanico è assai scarso. È noto che il liquido contenuto nel tubo endoteliale anche molto più tardi non contiene ancora elementi formati del sangue liberi, e non è fatto circolare, come dimostrano le ricerche di F. R. Sabin (1919).

Voglio richiamare l'attenzione sopra un carattere di durata affatto transitoria ma non infrequente delle primissime contrazioni circoscritte dell'abbozzo cardiaco, quale l'ho descritto negli esperimenti CLII e CXVIII; alludo all'arresto in contrazione accom-

1) F. R. Sabin invece sostiene che le contrazioni incominciano sempre nella stessa posizione, a destra, al limite con la vena o.-m. allo stadio di 10 somiti. E probabile che l'A. abbia osservato le contrazioni quando esse erano già piuttosto valide, e il tubo cardiaco comincia a incurvarsi con convessità a destra, il che rende effettivamente le contrazioni apparentemente più ampie e più facilmente apprezzabili da que lato.

pagnato da lievissime oscillazioni della parete che si contrae. Il primo momento avevo pensato a una forma di contrattura, ma per il fatto che la fase espansiva al termine dell'arresto in contrazione non pare allungata, ma à circa la stessa velocità che si osserverà in seguito nella fase espansiva delle contrazioni divenute più regolari, e sopra tutto perchè in altri casi si ànno contrazioni nettamente bicuspidate, Esp. CXX, CXXIII, e in altri infine, per termini di passaggio si arriva a una forma di attività cardiaca in cui le contrazioni si susseguono con ritmo regolare a coppie ravvicinate, credo più plausibile interpretare il fenomeno come dovuto alla sovrapposizione di contrazioni che avvengono in porzioni diverse di tessuto, le quali vanno differenziandosi indipendentemente una dall'altra e non sono ancora perfettamente fuse funzionalmente. Mi pare che vi sia una certa analogia con quanto osservò Mines (1908) nelle contrazioni spontanee del sartorio di rospo trattato con cloruro sodico; vedi le grafiche 6 e 7 di quest'autore a pag. 419.

In seguito le contrazioni assumono i caratteri di scosse semplici, abbastanza rapide, che non si modificano in modo apprezzabile nelle prime ore di funzione.

È pure degno di nota che fino dall'inizio le contrazioni, anche quando sono appena percettibili al microscopio, posseggono un ritmo regolarissimo, sull'inizio ogni contrazione è seguita da una pausa lunga (anche 15—20 secondi) ma sempre eguale, tale pausa va poi gradatamente riducendosi (vedi Esp. CXXVII) per il progressivo acceleramento del ritmo cardiaco.

b) Forma e struttura dell'abbozzo cardiaco durante le prime ore di attività contrattile.

Allo stadio de 6—7 somiti, quando l'abbozzo cardiaco non è ancora pulsante, si è già formato anteriormente il mesocardio ventrale, che come un sepimento divide le due cavità pleuropericardiche sulla linea mediana; dorsalmente i tubi endoteliali, non ancora fusi, sono ampiamente in contatto con la parete anteriore dell'intestino; in tale stadio l'abbozzo cardiaco à la forma di un piccolo cono con apice tronco rivolto cranialmente, con base concava coincidente con la porta intestinale, e i bordi laterali concavi a concavità rivolta esternamente. La comparsa delle prime contrazioni coincide quasi costantemente con un lieve rigonfiamento della parte mediana del cuore (vedi gli Esperimenti del § A.), per cui le sue pareti laterali vengono a farsi concave verso l'interno; quasi subito compare al limite tra

l'abbozzo cardiaco mediano e la radice delle vene onfalo-mesenteriche, un'incisura ad angolo acuto la cui presenza non mi risultò essere mai scompagnata dall'attività contrattile cardiaca. Il lieve rigonfiamento e l'incisura sono bene evidenti tra le altre nelle Fig. 4, 7, 6. Il tubo cardiaco è posto ancora simmetricamente sulla linea mediana, su sezioni seriali trasversali, meglio che dal blastoderma intero esaminato in superficie, si può rilevare che il mesocardio ventrale può persistere o meno per un tratto variamente lungo del tubo cardiaco; dorsalmente invece i punti di riflessione del mantello mioepicardico nella somatopleura sono ancora distanti, così che i tubi endoteliali, che sono ancora pari o possono presentare numerose cavità, sono ampiamente in contatto con la parete intestinale. In quanto alla minuta struttura del mantello mioepicardico all'inizio della sua attività contrattile, e anche quando questa interessa già tutto il tubo cardiaco, cioè allo stadio di 9 o 9—10 somiti, constatai che è formato da una lamina di aspetto epiteliale, data da uno o due strati di cellule cubiche o prismatiche, disposte in alcuni punti ad embrice; tali elementi che sono in diretta continuazione con gli elementi della somatopleura vi si differenziano in modo molto netto nel punto di riflessione del mantello mioepicardico, là dove verrà a formarsi il mesocardio dorsale, perchè il citoplasma è colorato diffusamente, più intensamente in grigio dall'ematossilina ferrica, il condrioma è più ricco, costituito da condrioconti brevi e tortuosi sparsi in tutto il corpo cellulare senza però un'orientazione particolare, e per il fatto costante e più caratteristico, che risalta anche ad una osservazione superficiale, che questi elementi, ancora sprovvisti dei caratteri specifici di mioblasti non presentano più nè prolungamenti protoplasmatici irregolari nè gli ampi spazi intercellulari esistenti fra gli elementi della somatopleura dal lato che è rivolto dal foglietto intestinale, in breve le cellule perdono i loro caratteri mesenchimali e la parete cardiaca risalta specialmente per la spiccata compattezza dei suoi elementi, questi sono tra loro intimamente saldati specialmente in corrispondenza dei loro spigoli, sì da offrire tanto all'esterno quanto verso l'interno del tubo cardiaco due superfici che non presentano la minima discontinuità. È specialmente a queste connessioni intercellulari

esistenti in corrispondenza della loro superficie libera che si deve l'aspetto epiteliale compatto posseduto dall'organo, poichè tra le superfici cellulari contigue si osservano qua e là delle sottili fessure intraparietali; queste fessure sono più numerose e più estese nei cuori pulsanti da minor tempo e permangono più a lungo manifeste ventralmente sulla linea mediana vicino ai resti del mesocardio ventrale e dorsalmente negli elementi più vicini alla somatopleura. Dove queste fessure sono numerose, l'individualità cellulare degli elementi della somatopleura si riconosce con molta chiarezza, quando invece mancano, è veramente arduo voler rilevare dei limiti cellulari con sicurezza.

In questi stadi, scorrendo con attenzione tutte le sezioni seriali del tubo cardiaco non è dato rintracciare l'esistenza di miofibrille (v. Fig. 9), quindi per quanto le cellule mioepicardiche abbiano già dei caratteri propri generali che le differenziano dagli elementi della somatopleura, manca però l'elemento specifico del tessuto contrattile. V. Esp. CXXVI, CXX, CXXVII, CIX, CLVI. I caratteri che ora è descritto si hanno nel tubo cardiaco già un poco prima che esso incominci a pulsare. Quando esse non pulsa che parzialmente è assai difficile se non impossibile riconoscere delle differenze tra gli elementi che già pulsano e quelli che sono in procinto di pulsare; con sicurezza si può affermare che gli elementi con prolungamenti protoplasmatici irregolari della somatopleura non sono contrattili, e si può forse indurre che una prima condizione perchè l'elemento cardiaco inizi la sua funzione è l'assunzione della forma cubica o prismatica; ma se è probabile che essa sia condizione necessaria, essa non è certamente condizione sufficiente all'attività contrattile ritmica. Le differenze che distinguono i vari elementi già contrattili e non ancora contrattili, che all'esame microscopico ci appaiono pressochè identici per forma e struttura sono probabilmente di natura chimica, e se anche vi sono delle differenze strutturali o nei caratteri fisici, queste si istituiscono per gradi insensibili sicchè è difficile affermare con sicurezza quale possa essere il substrato morfologico di queste prime contrazioni. La sola cosa che si può affermare è che tali contrazioni sono necessariamente sarcoplasmatiche. Risulta così dimostrato in modo più decisivo di quanto non risultasse dalle ricerche di Bruno che le prime contrazioni del tubo cardiaco sono indipendenti dall'esistenza delle miofibrille, poichè si iniziano un paio d'ore prima che incominci la loro differenziazione.

Le miofibrille istologicamente dimostrabili compaiono soltanto allo stadio di 10—11 somiti, in numero assai scarso dapprima e via via più numerose. V. Esp. LXII, LXb, CLV. Tecnicamente non è facile dimostrare l'esistenza di queste prime delicatissime miofibrille; è assolutamente indispensabile una buonissima fissazione con liquidi osmici, e colorando con l'ematoxilina ferrica, una differenziazione non eccessiva. Le prime miofibrille sono estremamente sottili, e stanno certamente al limite della visibilità, perciò la loro struttura spesso non risalta molto netta nei preparati; non è mai osservato che fibrille omogenee sieno precedute da granuli sparsi nel citoplasma, che si ordinano in fila come è sostenuto da Godlewski. Piccole differenze nell'aspetto di queste miofibrille credo dipendano oltre che dalla difficile visibilità dovuta alla loro estrema tenuità, anche da piccole differenze nel processo di fissazione e di colorazione, cui forse non si deve annettere troppa importanza. Dall'esame dei miei preparati, mi sono fatto la convinzione che le miofibrille all'inizio della loro differenziazione sieno dei filamenti omogenei, come è sostenuto da Duesberg e da altri.

Le prime miofibrille sono distese ininterrotte e rettilinee alla superficie di più cellule contigue, per lo più a livello della parte più dilatata del tubo cardiaco, nelle zone laterali dove il mantello mioepicardico raggiunge di solito il massimo della sua compattezza.

A breve distanza di tempo le miofibrille diventano più numerose e contemporaneamente alcune diventano più grosse, più facilmente dimostrabili e nettamente moniliformi.

c) Rapporti fra la differenziazione delle miofibrille e l'azione del calcio sull'abbozzo cardiaco.

Allo stadio di 11 e 11—12 somiti, il cuore si è un poco allungato e incomincia a incurvarsi verso destra, nella sua parete si sono già differenziate numerose miofibrille. In tale periodo non si può certamente rilevare modificazione alcuna nel tipo di contrazione del tubo cardiaco, a prescindere dalla graduale maggiore validità delle contrazioni e dall'aumento della frequenza del ritmo; quindi fino dalla loro prima comparsa nel cuore normalmente funzionante, le fibrille, se si contraggono, sono fedelmente solidali con il sarcoplasma, e costituiscono una reale unità funzionale. Ma queste precoci miofibrille sono contrattili? In una mia precedente ricerca (1924) descrissi una particolare alterazione dell'attività

cardiaca che è determinata dall'azione del cloruro di calcio, consistente in minute contrazioni asincrone di parti microscopiche del tessuto contrattile. Sulla base di numerose osservazioni personali, e sulla guida di dati citologici riguardanti l'abbozzo cardiaco raccolti dalla letteratura, venivo alla conclusione che le contrazioni minute dissociate fossero dipendenti dall'attività delle miofibrille. Ora volli ottenere la riprova sperimentale, esaminando istologicamente blastodermi che trattati col calcio avevano presentato o meno contrazioni fibrillari. Dagli Esp. LX, CXXVI, CXXVII, CLVI, risulta che quando il cuore non risponde con contrazioni fibrillari all'azione del calcio, non sono dimostrabili miofibrille neppure all'esame istologico più accurato in nessun punto del tubo cardiaco; mentre fibrille numerose e a vario grado di maturità si riscontrarono nei cuori degli embrioni i quali avevano presentato contrazioni fibrillari da calcio p. es. Esp. LXII, ed altri non riportati. Ma la dimostrazione più convincente l'ottenni nell'esperimento CLV, dove trattato il blastoderma col calcio osservai contrazioni fibrillari in una zona assai limitata del tubo cardiaco; esaminata la struttura di quest'ultimo sulle sezioni in serie, trovai in un piccolo numero di queste e per un breve tratto delle sottilissime lunghe miofibrille (v. fig. 12) che dalla ricostruzione plastica del tubo cardiaco mi risultarono corrispondere, per sede, in modo sorprendente alla zona in cui avevo osservato le contrazioni dissociate. È quindi alla presenza delle miofibrille che si deve attribuire la comparsa delle contrazioni fibrillari da calcio.

Un'altra conferma istologica che la possibilità di contrazioni fibrillari è legata alla presenza delle miofibrille l'ebbi in frammenti di cuore raccolti da embrioni al 6^o, 7^o giorno di incubazione e coltivati in vitro per 10, 12 giorni col metodo di Carrel dei successivi trapianti. Tali frammenti continuavano a contrarsi ritmicamente per molti giorni, trattati col calcio manifestavano vivaci contrazioni fibrillari, quindi ci dovevano essere ancora delle miofibrille conservate. All'esame istologico dei pezzi fissati in Maximow e colorati con l'ematoxilina ferrica potei realmente dimostrare la persistenza di numerose sottili miofibrille, trasversalmente striate. Non trovai invece più miofibrille in pezzi fissati dopo un numero vario di giorni di coltura e che trattati col calcio non avevano presentato le contrazioni fibrillari. Io vorrei quindi affermare che noi possediamo nel calcio, un mezzo fisiologico molto sensibile per dimostrare nel cuore embrionale vivente l'esistenza o meno delle miofibrille, l'esistenza cioè di una particolare struttura. Per le miofibrille cardiache si può quindi dire che esiste realmente un

chiaro rapporto tra la struttura del tessuto cardiaco e la possibilità di un particolare modo di funzione. Questa mi pare sia una riprova fisiologica della reale esistenza delle miofibrille, per cui esse non sono soltanto un'unità morfologica ma anche un'unità funzionale.

Mi si può obiettare, secondo i concetti di Heidenhain, sulla metastruttura, che le prime miofibrille dimostrabili istologicamente, possono essere precedute da formazione di grandezza inferiore a quella risolubile con i nostri attuali mezzi ottici, e non vi sono argomenti positivi che valgano a negare senz'altro questa possibilità, ma ciò non infirma la correlazione che è rilevato esistere tra le miofibrille e le contrazioni dissociate da calcio, perchè se non sono dimostrabili e visibili le miofibrille possono pure assai probabilmente non essere visibili neanche gli effetti delle loro contrazioni.

Oltre che nell'embrione dell'esperimento CLV ebbi occasione di osservare, per azione del calcio, una zona limitata di contrazioni fibrillari anche nell'embrione dell'esperimento CLVI. Non esaminai istologicamente questo embrione, ma volli ricordare quest'osservazione per rilevare come, tanto in questa quanto nell'altra analoga, la zona che presentava contrazioni fibrillari si trovasse allo stesso livello del punto in cui abitualmente si avvertono le prime contrazioni sarcoplasmatiche. Con tutta verisimiglianza le zone che per prime cominciano a funzionare sono le prime in cui si differenziano le miofibrille. Ora se il materiale cardiaco, una volta che ha iniziata la sua differenziazione, possiede un certo grado di inerzia, per cui non può non proseguire nella sua evoluzione strutturale, è naturale che le miofibrille compaiano dapprima nelle zone che per prime pulsarono, nelle quali cioè prima che nelle altre si iniziò il processo di differenziazione funzionale. Ma potrebbe darsi che le contrazioni sarcoplasmatiche rappresentassero nella genesi delle miofibrille uno dei fattori indispensabili alla loro differenziazione; in tal caso il materiale sarebbe molto atto a gettar luce sui rapporti esistenti fra struttura e funzione, ma di ciò in altra occasione; per ora mi basti aver rilevato la coincidenza di sede delle prime contrazioni sarcoplasmatiche e della differenziazione delle prime miofibrille.

d) Eccitabilità e automaticità.

Gli esperimenti di eccitamento elettrico dell'abbozzo cardiaco furono compiuti, anzitutto, al fine stabilire se non fosse eventualmente possibile anticipare artificialmente l'inizio dell'attività cardiaca. Io non sapevo ancora se le primissime contrazioni cardiache fossero estremamente limitate e deboli, come potei constatare in seguito, o se invece il cuore non andasse caricandosi in modo latente di

energia contrattile, per prorompere in un momento determinato nella prima contrazione già valida ed efficace, contrazione che forse si sarebbe potuta provocare anzi tempo artificialmente. Gli esperimenti CXVI, CXXXI, CXXVI, CV dimostrano che l'abbozzo cardiaco non pulsante, eccitato con forti stimoli di corrente indotta, anche pochi minuti prima dell'inizio delle contrazioni spontanee, non risponde; ma non appena è stata avvertita la prima contrazione, un intenso stimolo di corrente faradica è in grado di affrettare in modo molto sensibile il ritmo cardiaco (Esp. CLIX, CXXXI, CXXVI, CV, CX, CIII). Contrattilità ed eccitabilità quindi del cuore sono due proprietà intimamente legate tra loro che compaiono contemporaneamente nel sarcoplasma. Qui credo convenga sottolineare non tanto il fatto che il cuore, non appena incomincia a pulsare sia pure eccitabile elettricamente e con stimoli meccanici e termici, poichè è difficile concepire una capacità contrattile scompagnata dalla capacità di reagire a stimoli adeguati, quanto la proposizione che non appena nel cuore è sorta la capacità contrattile in esso si sono contemporaneamente create le condizioni sufficienti per l'attività ritmica spontanea che si inizia subito, senza bisogno di agenti esterni. In altre parole si può ripetere quanto Fano affermava sino dall' '88 che cioè il fondamento della funzione del cuore non è costituito dalla eccitabilità, ma dalla automaticità degli elementi che lo compongono.

Così ci possiamo render conto non solo del modo di istituirsi della contrazione cardiaca, v. § a) pag. 453, ma anche della possibilità e della frequenza che si formino più centri autonomi e asincroni di contrazione: l'elemento cardiaco, maturando, produce in se tutte le condizioni necessarie e sufficienti per la contrazione ritmica, e appena maturo, senza un momento di attesa si mette a pulsare.

Fano nelle sue pregevoli esperienze sul cuore embrionale ha dimostrato come l'eccitabilità del cuore vada man mano decrescendo negli stadi più precoci; per quanto riguarda l'eccitabilità elettrica i miei esperimenti non fanno che confermare tali osservazioni anche per i primi momenti dell'attività cardiaca, in cui non mi risulta sia stata mai saggiata tale eccitabilità. Infatti nelle prime ore di contrazione, per ottenere una risposta sono necessari stimoli faradici forti e prolungati, mentre in seguito bastano colpi semplici di apertura di corrente indotta sempre più deboli. Ma lo stesso non vale nelle prime ore di contrazione per gli stimoli termici, allora il cuore ne è sensibilissimo, e bastano lievi abbassamenti di temperatura per arrestarlo per un tempo anche abbastanza lungo (Esp. CLIX p. es

e molti altri non riportati); mentre il cuore alla 48^a, 72^a ora di incubazione non si arresta neanche a temperatura ambiente di 11°—15°. Fano non studiò le contrazioni che a partire dal terzo giorno di incubazione, e se si volesse completare verso sinistra la sua grafica della Fig. V (1885, p. 20) bisognerebbe far convergere in basso verso lo zero tanto la curva dell'eccitabilità quanto quella della resistenza alle influenze dell'ambiente in corrispondenza del punto che segna l'inizio dell'attività contrattile. Tale resistenza cresce molto rapidamente e raggiunge il suo massimo approssimativamente al 3° giorno di incubazione per decrescere poi lentamente come à dimostrato Fano.

Ho già ricordato che progredendo nello sviluppo il cuore diventa sempre più eccitabile, e non appena tutto il cuore presenta una pulsazione sincrona, abbastanza valida (sempre però in un stadio anteriore alla differenziazione delle miofibrille) si possono ottenere delle extrasistoli con un solo colpo di apertura di corrente indotta. Per quanto, non disponendo di mezzi di registrazione grafica, non possa dare dei dati molto precisi sull'eccitabilità dell'abbozzo cardiaco all'inizio della sua funzione, pure rilevo qualche osservazione che non mi sembra priva di interesse. Dagli esperimenti CXXXI, CXXVI, CV, CX, CIII e da altri che per brevità non ho riferito risulta, che gli stimoli faradici determinano un aumento di frequenza del ritmo cardiaco, che è tanto più grande quanto maggiore è l'intensità dello stimolo. Poco dopo cessata la stimolazione, la frequenza delle contrazioni ridiventa normale. Se è possibile accelerare il ritmo cardiaco vuol dire che già in questo stadio il cuore à delle energie di riserva, che entro determinati limiti possono essere sfruttate. Il ritmo può essere accelerato modicamente anche per più minuti di seguito senza che si osservino fenomeni di stanchezza, se invece l'intensità dello stimolo è troppo alta, si possono avere all'inizio della stimolazione contrazioni molto ravvicinate, che poi vanno sempre più diradando, il che significa che le richieste diventano superiori alla disponibilità. Questo comportamento è particolarmente più frequente negli embrioni meno sviluppati. In queste accelerazioni del ritmo per stimoli elettrici, più che aumentare la velocità di contrazione, almeno da quanto si può giudicare soggettivamente, si à una sempre maggiore riduzione dell'intervallo che separa le singole contrazioni, continuando ad aumentare l'intensità dello stimolo, le contrazioni vengono sempre più anticipate a scapito dell'escursione diastolica del tubo cardiaco, che diventa sempre più incompleta (si riduce così l'ampiezza delle contrazioni) sino ad arrivare all'arresto in contrazione, cioè al tetano completo. La possibilità di sovrapporre

gradatamente e in modo sempre più completo le scosse semplici del cuore, aumentando l'intensità dello stimolo, ed il fatto che stimolazioni molto leggere non modificano per nulla il ritmo cardiaco, dimostrano che il periodo refrattario assoluto se esiste è minimo, mentre il periodo refrattario relativo dura dalla fine della fase di energia crescente sino all'inizio della successiva fase di energia crescente, diminuendo gradualmente. Questi risultati ottenuti con la stimolazione faradica concordano con quanto avevano già visto Preyer e Fano su l'abbozzo cardiaco un poco più progredito nello sviluppo.

I colpi semplici di apertura di corrente indotta, che meglio si prestano a studiare l'eccitabilità non erano efficaci nelle primissime ore di contrazione, probabilmente perchè la batteria di accumulatori di cui disponevo non era abbastanza forte. Ma a cuore un poco più progredito nello sviluppo, con una sola stimolazione ottenevo delle extrasistoli. Dovetti procedere sempre a caso, cercando per tentativi, di far cadere gli stimoli in momenti vari delle singole fasi di contrazione; perciò non posso dare dei dati sul periodo di eccitazione latente. Mi risultò invece in modo molto netto che quanto più avvicinavo il rocchetto primario al secondario, tanto più facilmente e tanto prima, dopo il termine della fase di energia crescente, potevo ottenere una scossa anticipata, e soltanto con colpi molto intensi questa poteva avvenire anche prima della espansione completa del tubo cardiaco. Queste extrasistoli non erano mai seguite da pausa compensatoria, all'opposto la frequenza del ritmo cardiaco restava aumentata per un periodo variabile di tempo; il grado e la durata della maggiore frequenza erano tanto più grandi quanto più forte era stato lo stimolo. A tal riguardo mi sembra dimostrativo l'esp. CIII dove con 12 colpi semplici di corrente indotta d'apertura la frequenza delle pulsazioni viene più che raddoppiata e si ottengono 33 contrazioni in più del normale, in un minuto.

Langerdorf e Keiser (citati da Luciani, Vol. 1, p. 341) ottennero anche nel cuore adulto pulsazioni ritmiche più frequenti del normale stimolandolo in corrispondenza del limite seno-atriale o atrio-ventricolare. Da alcuni A.A. il fatto fu spiegato con la presenza di elementi gangliari in quei distretti, secondo altri A.A. invece tale comportamento fu riferito alle cellule con caratteri più embrionali esistenti in quelle regioni. Le mie osservazioni fatte sul cuore embrionale in uno stadio in cui non ci sono ancora elementi nervosi, convaliderebbe quest'ultima supposizione, che cioè si tratti della funzione di cellule muscolari dotate di un più spiccato automatismo ritmico.

Risultati pressochè identici li ottenni pure su frammenti di cuore embrionale raccolto tra il terzo e ottavo giorno di incubazione e coltivati in vitro. Finchè tali frammenti pulsano ritmicamente in modo spontaneo, non si apprezzano differenze qualitative nel comportamento di fronte agli stimoli elettrici; da qualunque regione si fosse prelevato il pezzetto. Vi sono invece differenze quantitative, specialmente nell'eccitabilità di pezzi di atrio e di ventricolo, differenze che sono già spontaneamente manifeste nella diversa frequenza e durata delle contrazioni ritmiche nei singoli pezzi; però la sola osservazione è insufficiente a precisarle.

La possibilità che à il cuore embrionale intero e ogni sua parte isolata di aumentare la frequenza delle contrazioni sotto l'azione di stimolazioni faradiche continuate, o di stimoli semplici ripetuti ritmicamente, ritengo sia una proprietà di molta importanza perchè indispensabile all'istituirsi della contrazione sincrona di tutto il cuore embrionale.

e) Sincronicità nel ritmo fra le singole parti del cuore. —

Meccanismo della conduzione dell'eccitamento alla contrazione. —

Connessioni fra i mioblasti.

In casi di duplicità cardiaca, dovuta a malformazione, era stata osservata la indipendenza funzionale dei due cuori (D a r e s t e 1877, F a n o 1885) e in un tempo in cui non era ancora bene conosciuto lo sviluppo del cuore il fatto fu addotto giustamente a prova dell'origine del cuore da un abbozzo pari. La duplicità cardiaca fu ottenuta in seguito sperimentalmente da G r ä p e r nel pollo e da E k m a n n 1924 negli Anfibi. Quest'ultimo A. osservò che due cuori i quali si erano sviluppati isolati, pulsavano entrambi ritmicamente ma asincronicamente. Però questa asincronicità funzionale che era stata osservata soltanto in casi di malformazione, o era stata ottenuta sperimentalmente, io ritengo in base alle mie osservazioni essere, se non costante, almeno molto frequente nell'embrione di pollo prima che i due abbozzi si siano riuniti. La duplicità primitiva del cuore non è soltanto morfologica ma anche funzionale; ciò proviene dalla differenziazione contemporanea che procede autonomamente nelle singole porzioni di materiale cardiaco. Prove di tale differenziazione autonoma funzionale erano già state date da vari A.A. K n o w e r 1907 quando asportava l'abbozzo cardiaco nelle rane in modo incompleto, vedeva che i residui di materiale cardiaco si sviluppavano e pulsavano ritmicamente; E k m a n n 1921 ripete più ampiamente tali esperimenti cogli stessi risultati; Shipley 1918 senza

precisare lo stadio in cui raccolse gli embrioni afferma di aver visto istituirsi contrazioni ritmiche in frammenti degli stessi coltivati in vitro.

Se ad onta di questa grande autonomia di sviluppo le irregolarità funzionali, che le mie osservazioni dimostrano intervenire anche nei blastodermi interi e normali, scompaiono in breve, lo si deve certamente al fatto che ben presto gli stimoli contrattili si possono propagare da una parte all'altra del cuore e le parti che hanno un ritmo più frequente trascinano a tale ritmo anche le parti più pigre.

La dimostrazione che è veramente in atto un tale meccanismo noi la troviamo nei recenti interessanti esperimenti di Albert Fischer (1924—1925). Egli osservò che ponendo in una coltura in vitro due frammenti di cuore pulsanti, vicini, nelle prime ore i due pezzi continuano a pulsare ritmicamente ma con frequenza diversa, cioè conservando ognuno la propria indipendenza funzionale; ma dopo un periodo che varia da 24 a 72 ore osserva che i pezzi pulsano con assoluta sincronicità. Sulle sezioni istologiche poté stabilire che nelle colture in cui le pulsazioni erano divenute sincrone, nel punto di unione si trovavano a contatto diretto gli elementi contrattili, mentre nelle colture che funzionalmente non si erano fuse, lo spazio fra i due pezzi era colmato da cellule migranti. L'A. riusciva a dimostrare così in modo brillante come in vitro, frammenti indipendenti e provenienti anche da embrioni diversi, potessero esplicare per mezzo del contatto cellulare una reciproca azione su alcune funzioni fisiologiche. Per convincermi personalmente che in questi esperimenti si trattava della conduzione degli stimoli specifici da un pezzo all'altro e non di azione meccanica, volli ripetere lo stesso esperimento per osservare l'effetto che vi potevano esercitare degli stimoli estrinseci. Vedi Cap. C, pag. 446.

Per quanto si riferisce alla facilità e alla frequenza della fusione delle contrazioni in frammenti dello stesso cuore o di cuori diversi non posso che confermare i risultati di Fischer.

L'effetto ottenuto su simili preparati dall'abbassamento della temperatura, mi pare sia di interpretazione facile, se si pensa che tale abbassamento diminuisce la conduttività di tutto il tessuto e diminuisce in vario modo l'eccitabilità dei vari pezzi; il risultato dell'esperimenti 215 e 1841 mi dimostrano chiaramente la dipendenza di un pezzo rispetto all'altro con il suo ritardo graduale nella contrazione e il successivo ritmo alloritmico. (Il numero di contrazioni di una parte è un multiplo delle contrazioni dell'altro.) La stessa dipendenza funzionale è dimostrata dagli effetti ottenuti con l'in-

nalzamento della temperatura, dove il pezzo *b* segue irregolarmente il ritmo accelerato di *a* perchè a temperatura elevata la conduzione degli stimoli è buona, ma *b* è più facilmente esauribile di *a*. Più probativo è l'effetto ottenuto con la stimolazione elettrica di un solo pezzo; nell'esp. 1840 l'aumento di frequenza di *a* si propaga regolarmente a *b*, se la stimolazione non è troppo intensa, per stimolazioni più forti (analogamente a quanto si osserva per l'innalzamento della temperatura) il ritmo di *b* diventa irregolare perchè più facilmente esauribile, per stimoli ancora più intensi diventa irregolare pure il ritmo di *a*, per le stesse ragioni. Se i pezzi vengono divisi, *b* resta indifferente agli stimoli elettrici portati su *a*.

Credo che anche le irregolarità di ritmo osservate da Fischer nel suo esp. 2013 troviamo la loro spiegazione più che in azioni meccaniche, in un grado diverso di eccitabilità dei due pezzi e in un sistema di conduzione collegantili in modo ancora imperfetto. Di ciò mi sono potuto convincere in numerose osservazioni, e una prova l'abbiamo nel fatto, che l'unità funzionale si fa più solida col progredire del tempo di coltura (v. esp. 1881 e 1907); in tali condizioni le connessioni si fanno verosimilmente sempre più numerose, mentre di poco possono variare le condizioni meccaniche.

Un tale meccanismo lo si deve ammettere di necessità anche nel cuore all'inizio della sua funzione, se si pensa al modo graduale di istituirsi della funzione cardiaca, di cui ho riferito a pag. 453. La capacità contrattile si diffonde gradualmente a una zona sempre più estesa di parete cardiaca, ma di pari passo che le contrazioni diventano più ampie e più valide aumenta anche la loro frequenza. Ora se in un determinato momento immaginassimo di distruggere tutta la parte di tessuto cardiaco che già è contrattile, si può essere quasi certi che il tessuto cardiaco rimasto ricomincerebbe daccapo con contrazioni circoscritte e assai rade di una qualche sua parte, come si osserva avvenire nella metà cardiaca che incomincia a pulsare più tardi, indipendentemente. Quando invece parti che vanno via via acquistando la capacità funzionale si trovano in contatto con elementi già funzionanti, ne sono tosto assimilate funzionalmente e assumono rapidamente il ritmo del centro dominante.

Se però molti fatti consentono di ammettere che tutti gli elementi dell'abbozzo cardiaco possiedano la capacità di differenziarsi funzionalmente in modo autonomo, è certo però che alcune zone determinate ne possiedano il primato come è dimostrato dalla costanza di sede delle prime contrazioni circoscritte. Tale primato non sta

soltanto nella priorità cronologica, ma anche in un grado più spiccato di automaticità posseduto da queste zone. Negli esp. CXXVII, CXXIV, CXLVII vediamo che i tratti iniziali delle vene onfalo-mesenteriche si mettono a pulsare indipendentemente alcune ore dopo iniziata la pulsazione dell'abbozzo cardiaco mediano; ed essi, pure essendo funzionalmente meno anziani, raggiungono presto una frequenza maggiore e una maggiore automaticità del resto. In condizioni normali la loro frequenza viene imposta a tutto il cuore. In una mia nota preliminare (1924) rilevavo come tale fatto non si potesse forse interpretare come indice di una precocissima differenziazione atrio-ventricolare, e che esso non fosse che l'esagerazione del breve intervallo osservato da Bottazzi (1896) tra la contrazione del segmento venoso e quella del segmento arterioso nel cuore di pollo al 3° giorno di incubazione. Recentemente pure W. H. Lewis (1924) ottenne frequentemente a temperature sopra i 29° il blocco atrio-ventricolare e alloritmia nel cuore isolato al 2° e 3° giorno di incubazione, per cui il ritmo ventricolare diventa la metà e meno del ritmo atriale. È strano che queste irregolarità di ritmo compaiano passando da temperature basse (26°) alla temperatura optimum per lo sviluppo dell'embrione (38°—40°). La spiegazione di queste alloritmie va certamente ricercata nella maggiore labilità funzionale del tessuto che unisce atrio a ventricolo, rispetto al resto; negli esperimenti di Lewis esso assolve incompletamente il suo compito di connessione atrio-ventricolare per il trauma subito nell'isolamento del cuore, nei miei esperimenti la sua funzione viene a mancare per le condizioni abnormi in cui si sviluppa il cuore.

Qui sorge il problema della conduzione degli stimoli. È noto da molto tempo che il cuore di embrioni di pollo pulsante, per lo meno sino alla fine del secondo giorno di incubazione, è affatto sprovvisto di nervi, io stesso me ne potei persuadere per il grado di sviluppo ancora molto arretrato che presentava il sistema nervoso nei blastodermi esaminati; quindi la conduzione nervosa non è in gioco. Anche le miofibrille sono fuori causa (pag. 458); è vero che queste sino dalla loro prima comparsa sono piuttosto lunghe e collegano reciprocamente più mioblasti, ma la fusione delle contrazioni avviene prima della loro comparsa; inoltre quando esse sono già numerose, negli embrioni di 12—13 somiti, ho dimostrato che trattando il blastoderma con soluzione di cloruro di calcio insorgono contrazioni dissociate vivaci delle miofibrille, ma persistono, anche in soluzione pura di calcio, le contrazioni sarcoplasmatiche sinergiche del tubo cardiaco. Bisogna quindi

ammettere che la conduzione avvenga per via sarcoplasmatica. Ma a ciò è necessaria la continuità sarcoplasmatica o basta il semplice contatto? Vediamo come si istituisce la sincronicità delle contrazioni cardiache. Le due metà dell'abbozzo cardiaco vengono a contatto e cominciano a saldarsi sulla linea mediana già allo stadio di 6 somiti, molto prima quindi che incomincino le contrazioni ritmiche. Quando le contrazioni si sono iniziate, e sono asincrone nelle due metà, si nota ancora ventralmente, sulla linea mediana, la persistenza del mesocardio ventrale o di una sua parte sotto forma di una cresta di tessuto di aspetto epitelioidale, sporgente nella cavità pleuro-pericardica. In questo momento, se non vi fossero i resti del mesocardio, all'esame istologico non si riconoscerebbe più il punto di sutura poichè le cellule che appartenevano rispettivamente alla metà destra e metà sinistra hanno stabilito fra loro una saldatura identica a quella che lega gli altri mioblasti tra loro, e tutta la parte ventrale del mantello mioepicardico è un poco più sottile delle parti laterali ma in tutto simile per gli altri caratteri istologici. In quanto all'asincronicità delle due metà in questo stadio, è vero che l'ho vista accompagnata sempre dalla persistenza di residui del mesocardio ventrale, però non credo che sieno questi a costituire un ostacolo meccanico al fondersi delle contrazioni; l'ostacolo piuttosto è dato da tutta la zona ventrale mediana, piuttosto estesa, di mantello mioepicardico non ancora contrattile; ricorderò che in questi casi le contrazioni hanno sempre un'escursione piccolissima, appunto perchè sono limitate le aree di tessuto contrattile. Ritengo che le parti che ancora non pulsano non siano capaci della trasmissione degli stimoli e perciò siano di impedimento alla sincronicità delle contrazioni. È probabile che anche la conduttività dei mioblasti per l'eccitamento alla contrazione sia una proprietà che non va disgiunta dalla contrattilità e dall'eccitabilità.

Quando le contrazioni si sono fatte sinergiche, si può rilevare che tutto il tubo cardiaco si contrae, e istologicamente anche nella parte ventrale sono diventate meno numerose le fessure intraparietali di cui a pag. 456. Come si vede la fusione funzionale delle due metà cardiache è preceduta di molto da un'intima connessione strutturale, che ne è certamente indispensabile. In questa connessione non si può certo parlare di semplice contatto, i mioblasti provenienti dalle due metà sono saldati fra loro in modo molto tenace come ho già descritto a pag. 456 per la parete cardiaca all'inizio della sua funzione; e non può essere diversamente se si pensa all'azione di pompa che deve esercitare il tubo

cardiaco, per cui la pressione interna che si stabilisce durante la contrazione tenderebbe ad aprire la più piccola discontinuità esistente nella parete. Tanto i rapporti fra gli elementi che si trovano a contatto fino dal primo abbozzarsi del mantello mioepicardico quanto quelli fra i mioblasti che vengono in contatto più tardi, sulla linea mediana, sono destinati a far sorgere in seguito un sincizio unico di tutto il cuore; ma la solidarietà funzionale delle due metà è grande sino dalle prime ore in cui si è istituita; nè variazioni di temperatura nè stimoli elettrici portati su una sola metà del tubo cardiaco non riescono a determinare una alloritmia delle due metà. I dati istologici riportati non sono sufficienti a chiarire la natura delle connessioni dei mioblasti in questo stadio precoce, però se ripugna ammettere con Marceau (1903) la struttura plasmodiale, poichè le individualità cellulari sono abbastanza bene riconoscibili, per argomenti indiretti mi pare non si possa ammettere un semplice contatto dei mioblasti; la rapida e perfetta conduzione degli stimoli in tutte le direzioni già allo stadio di 11—12 somiti mal si spiegherebbe con l'esistenza di una membrana cellulare completa intorno a ogni singolo mioblasta, e altrettanto difficile sarebbe rendersi ragione della refrattarietà di questi cuori all'azione del calcio (Olivio 1924) che com'è noto diminuisce la permeabilità delle membrane cellulari; ricordo a questo proposito che quando incominciai gli esperimenti sull'azione del calcio ritenevo a priori di poter ottenere più facilmente e più completamente la dissociazione contrattile nei cuori più precoci appunto perchè i loro elementi sono più nettamente individualizzati (ho già ricordato a pag. 458 come le miofibrille per azione del calcio si contraggano aritmicamente lasciando indisturbata la contrazione sarcoplasmatica).

Così sono arrivato alla convinzione che è il sarcoplasma il veicolo dell'eccitamento e che è soprattutto esso che ha la funzione di legare funzionalmente le varie parti del cuore.

In seguito a queste considerazioni ritengo che fra i mioblasti esistano sino dall'inizio della loro attività funzionale delle connessioni protoplasmatiche. Darne la dimostrazione istologica su preparati fissati e colorati è certamente cosa ardua, specialmente se sono sotto forma di sottili ponti protoplasmatici; tutti gli autori moderni che si occuparono dell'argomento sono concordi nell'ammettere l'insufficienza della tecnica istologica in questo campo; le superfici di contatto fra due cellule, se sono viste in superficie, sono malamente apprezzabili, quando sono viste di profilo, si presentano come una linea più o meno indecisa di diversa tinta che lascia

sempre dubbiosi sull'esistenza o meno di eventuali continuità protoplasmatiche parziali.

Recentemente G. Levi sostenne per il cuore di embrioni di pollo dei primi giorni le vedute della Schockaert che cioè le cellule siano individualizzate, basandosi soprattutto sul fatto che quando il cuore è coltivato in vitro i suoi elementi si dissociano nel plasma, e nelle parti periferiche acquistano completa indipendenza. Però tanto questa constatazione quanto quella della Schockaert che gli elementi in mitosi acquistano netta individualità, mi pare dimostrino soltanto la capacità che hanno gli elementi del miocardio di acquistare l'individualità in particolari condizioni, ma non la reale loro indipendenza finchè si trovano a far parte integrante del muscolo cardiaco funzionante. Ricorderò che nelle stesse condizioni l'indipendenza cellulare può essere acquistata anche da elementi che costituiscono indubbiamente dei plasmodi come le fibre muscolari scheletriche (Lewis, Levi). L'unità funzionale del tessuto cardiaco embrionale normale è qualcosa di assai più manifesto e stabile che non l'individualità cellulare dei suoi elementi. Dalle stesse osservazioni di Levi risulta che l'individualità cellulare nelle colture è acquistata gradualmente; in prossimità dell'espianto osserva spesso miofibrille che passano ininterrotte da una cellula all'altra, e nel trattare della persistenza dei caratteri specifici originari nelle cellule coltivate in vitro (1919) ha dimostrato che quando i movimenti di locomozione sono molto limitati si può avere la migrazione di sincizii di mioblasti con la forma e la struttura originarie poco modificate. Io stesso potei confermare su preparati viventi e dopo fissati e colorati, che nelle colture di cuore al 3^o—4^o giorno di incubazione, eseguiti in uno strato di plasma piuttosto spesso, anche dopo 8—10 passaggi successivi (più di 20 giorni di coltura) gli elementi più vicini all'espianto migrano mantenendo ampie connessioni protoplasmatiche, sotto forma di lamine che si assottigliano e si interrompono soltanto nelle parti più periferiche della coltura; in tali preparati si ha veramente l'impressione di vedere la tipica struttura plessiforme del miocardio dissociata. Anche più importante a dimostrare la possibilità, direi anzi la probabilità delle connessioni protoplasmatiche dei mioblasti nel cuore, è l'osservazione di Levi ('25) della formazione di anastomosi transitorie tra elementi migranti affatto indipendenti. Io stesso potei convincermi ripetutamente della reale esistenza di anastomosi avendo tra l'altro osservato la possibilità che in una di queste connessioni transitorie una cellula ceda una porzione del suo citoplasma alla vicina, e avendo inoltre dimostrato

col mezzo della microdissezione che, mentre in alcuni casi l'anastomosi è apparente, in altri invece è reale¹⁾ (vedi esp. 247 a pag. 451).

Non bisogna dimenticare che le condizioni di frammenti di cuore coltivati in vitro sono affatto particolari, e sono ancora molto oscure le ragioni che fanno sì che gli elementi invadenti il plasma si individualizzino completamente dal resto del miocardio; certamente il comportamento del materiale cardiaco nell'organismo, a contatto di altri tessuti normali è diverso. La stessa tendenza alla fusione che si osserva normalmente tra le due metà dell'abbozzo cardiaco, la si osserva pure fra qualunque porzione diversa di mantello mioepicardico. Così negli esperimenti di Gräper sul pollo, dove vien distrutta una metà dell'abbozzo, l'altra metà forma un tubo cardiaco chiuso per la coalescenza delle pieghe ventrale e dorsale della somato-pleura dello stesso lato; K. Ekmann ('24) dividendo longitudinalmente l'area cardiaca di larve d'Anfibi in tre parti, ottiene per meccanismo analogo tre tubi cardiaci distinti. La stessa grande tendenza alla fusione fra parti ben distinte del cuore esiste anche tra cuori di animali diversi, della stessa specie, così Ekmann ('21) poté sostituire in una larva un pezzo dell'abbozzo cardiaco con un pezzo prelevato da un'altra larva ottenendo la saldatura dei vari segmenti, e unendo due larve sul lato ventrale Born ('97) ed Ekmann ('21) osservarono la fusione più o meno estesa dei due cuori; in questi ultimi esperimenti, a dimostrare meglio l'intima connessione esistente tra questi cuori doppi, provenienti da due animali differenti, sta il fatto che essi pulsano per lo più sincronicamente.

Infine gli esperimenti di Fischer da me confermati (p. 448) dimostrano esistere la stessa possibilità anche tra frammenti di cuore coltivati in vitro. Il fatto che l'unità funzionale diventa col tempo sempre meno scindibile, vedi esp. 1881 e 1907 a pag. 449, è dovuto certamente a che le connessioni si fanno sempre più numerose ed è assicurata su una superficie di sezione sempre maggiore la conduzione degli stimoli. Gli elementi che in questo caso vanno ad occupare lo strato di plasma interposto ai due pezzi, possono stabilire l'unità funzionale perchè, come è già ricordato, essi mantengono finchè sono in prossimità del pezzo d'origine ampie connessioni

1) Sulle connessioni protoplasmatiche è riferito ampiamente nei recenti lavori di Fischer (1924) e Levi (1925); ricordo anche l'interessante osservazione di Chambers che dimostrò col mezzo della microdissezione l'esistenza di anastomosi tra fibroblasti. De Garis (1924) basandosi sulla semplice osservazione delle colture viventi, nega l'esistenza di anastomosi tra gli elementi migranti.

protoplasmatiche reciproche, quando i due pezzi sono tra loro troppo distanti, l'intervallo è colmato da elementi che hanno già raggiunto la loro completa individualità e hanno perduto i caratteri specifici; l'unità funzionale allora non si stabilisce, probabilmente perchè questi elementi non sono più in grado di trasmettere gli stimoli¹⁾).

I fatti riportati dimostrano con evidenza che tra questi pezzi diversi si stabilisce un vero e proprio sistema di conduzione degli stimoli. Per gli argomenti addotti ritengo molto probabile che tale sistema di conduzione sia dato da anastomosi che si stabiliscono tra gli elementi che collegano i due pezzi.

Ritengo quindi molto probabile, specialmente per i dati fisiologici, che gli elementi i quali costituiscono l'abbozzo cardiaco embrionale di pollo, sino dall'inizio della loro funzione sinergica, sieno tra loro collegati da anastomosi multiple. La continuità sarco-plasmatica va intesa come la base anatomica indispensabile all'istituirsi della unità funzionale. Essa però non pregiudica per nulla il concetto di individualità cellulare riferito ad alcune determinate attività biologiche, come la mitosi e il trofismo; è anzi molto verosimile che anche nel sincizio cardiaco dell'adulto ogni nucleo abbia la sua sfera di azione ben delimitata.

IV^o Differenziazione strutturale e funzionale dei miotomi.

A. Descrizione degli esperimenti.

Esp. XCVII. — Embrione di ore d'incubaz. 53, 21 somiti. Montato intero in plasma. I somiti non rispondono alle stimolazioni faradiche; il cuore in forma di tubo ripiegato ad S dapprima accelera il suo ritmo e poi si arresta per stimolazioni molto intense.

Esp. CXXII. — Embrione di ore d'incubaz. 60, 22 somiti; montato intero in plasma, privato dell'amnios e del tubo cardiaco.

1) In quanto alla natura degli elementi che si ottengono dalla coltivazione „in vitro“ di frammenti di cuore, A. Fischer ammette, seguendo in ciò le idee di Carrel, che si tratti di fibroblasti. Da ricerche non ancora ultimate e dirette allo scopo di stabilire la natura di questi elementi, mi sono fatto la convinzione che si tratti, almeno in grande prevalenza, di mioblasti più o meno sdifferenziati. Su questo quesito, estraneo al presente lavoro, mi riservo di trattare a parte, qui ricorderò soltanto che è necessario ammettere la natura mioblastica delle cellule che migrano almeno in quei casi in cui si riesce ad ottenere unità funzionale (sincronicità) tra frammenti di cuore distinti, tra loro distanti all'inizio della coltura più di 3—4 millimetri; in queste colture lo spazio interposto ai due frammenti viene colmato da elementi in migrazione, i quali devono necessariamente essere in grado di condurre gli stimoli e forse anche di contrarsi.

A colpi di corrente indotta, cm. 3, pare scorgere contrazioni lente di escursione limitatissima nei miotomi più craniali.

Esp. CXIII. — Embrione di ore d'incubaz. 64, 27 somiti. Montato intero in plasma, non reagisce agli stimoli elettrici.

Esp. CXXIX. — Embrione di ore d'incubaz. 63, 27 somiti. Eccitamenti faradici portati sui primi 7 miotomi, isolati, determinano contrazioni assai lente e d'escursione minima. Dopo un paio di contrazioni bisogna attendere qualche minuto prima di ottenere una nuova contrazione.

Sulle sezioni seriali del segmento di embrione, fatte secondo un piano longitudinale, intermedio tra il frontale e il sagittale: i miotomi di un lato risultano tagliati parallelamente alla loro superficie cutanea, nelle sezioni più mediane la lamina mediale ha forma di rettangoli a margini rettilinei, che misurano $160\ \mu$ in lunghezza per $150\ \mu$ in larghezza; dall'altro lato i miotomi sono tagliati normalmente alla superficie cutanea e hanno forma di fusi allungati. La lamina laterale, specialmente nella sua porzione dorsale, è formata da un solo strato di cellule prismatiche, piccole, indifferenziate, contenenti qualche goccia di vitello; la lamina mediale invece è formata da elementi affusati, lunghi quanto è lungo il miotomo, contenenti un solo nucleo ovalare, vescicoloso, con due nucleoli, situato nel terzo medio della cellula; nel piano parallelo alla superficie cutanea i singoli elementi sono paralleli fra loro, nel piano normale alla superficie cutanea le loro estremità assottigliate convergono verso il limite del miotomo. Il citoplasma di questi elementi si colora diffusamente in grigio, contiene numerosi condrioconti lunghi, ondulati, orientati parallelamente all'asse maggiore, la loro orientazione è più netta verso l'estremità; il deutoplasma è scomparso, non vi si riconoscono ancora miofibrille.

Esp. CXXIII. — Embrione di ore d'incubaz. 65, 28 somiti, diametro dell'area vascolosa (misurata fino al seno terminale) 22 mm.

A colpi di corrente indotta non reagisce; colla stimolazione faradica, 3 cm., si ottengono, a livello dei primi tre miotomi, contrazioni molto lente, di escursione assai limitata.

Esp. CLXIV. — Embrione di ore d'incubaz. 80, 29 somiti, gli otto miotomi più craniali, isolati, si contraggono per stimoli faradici; contrazioni lente, di escursione piccola, facilmente esauribili. Tempo d'eccitazione latente piuttosto lungo (qualche decimo di secondo).

Esp. CVII. — Embrione di ore d'incubaz. 73, 29 somiti, i primi 6 miotomi divisi con taglio sagittale: soglia dell'eccitamento cm. 6, si contrae soltanto il 6° miotomo; coll'eccitamento a cm. 4 si contrae tutta la catena di miotomi. Contrazioni valide abbastanza rapide, decontrazione piuttosto lenta.

Stimolazione faradica: il tetano dura pochi secondi; la decontrazione è così lenta che non si avverte. Dopo qualche minuto è di nuovo eccitabile, soglia cm. 6.

Dopo 24 ore ancora eccitabile, soglia cm. 6. Trattato con soluzione di veratrina 1:50 000 — diventa ineccitabile.

Nelle sezioni sagittali (fissazione e colorazione ottimamente riescite) i miotomi, di forma rettangolare, lunghi $165\ \mu$, sono costituiti da elementi affusati, mononucleati, che vanno da un capo all'altro del miotomo; nuclei ovalari, vescicolosi, con uno o due grossi nucleoli, situati nella regione di mezzo

del miotomo; il citoplasma dei singoli mioblasti è colorato in grigio, ma non è perfettamente omogeneo; vi sono lievi differenze di tono, parti più chiare e più scure, a contorni sfumati, disposte nel senso della lunghezza, che danno un aspetto pettinato al citoplasma; condrioma molto ricco fatto di condriociti assai lunghi, finemente ondulati, orientati parallelamente all'asse cellulare, spiccano nettamente sul fondo più chiaro del citoplasma; non si distinguono miofibrille, vedi fig. 16.

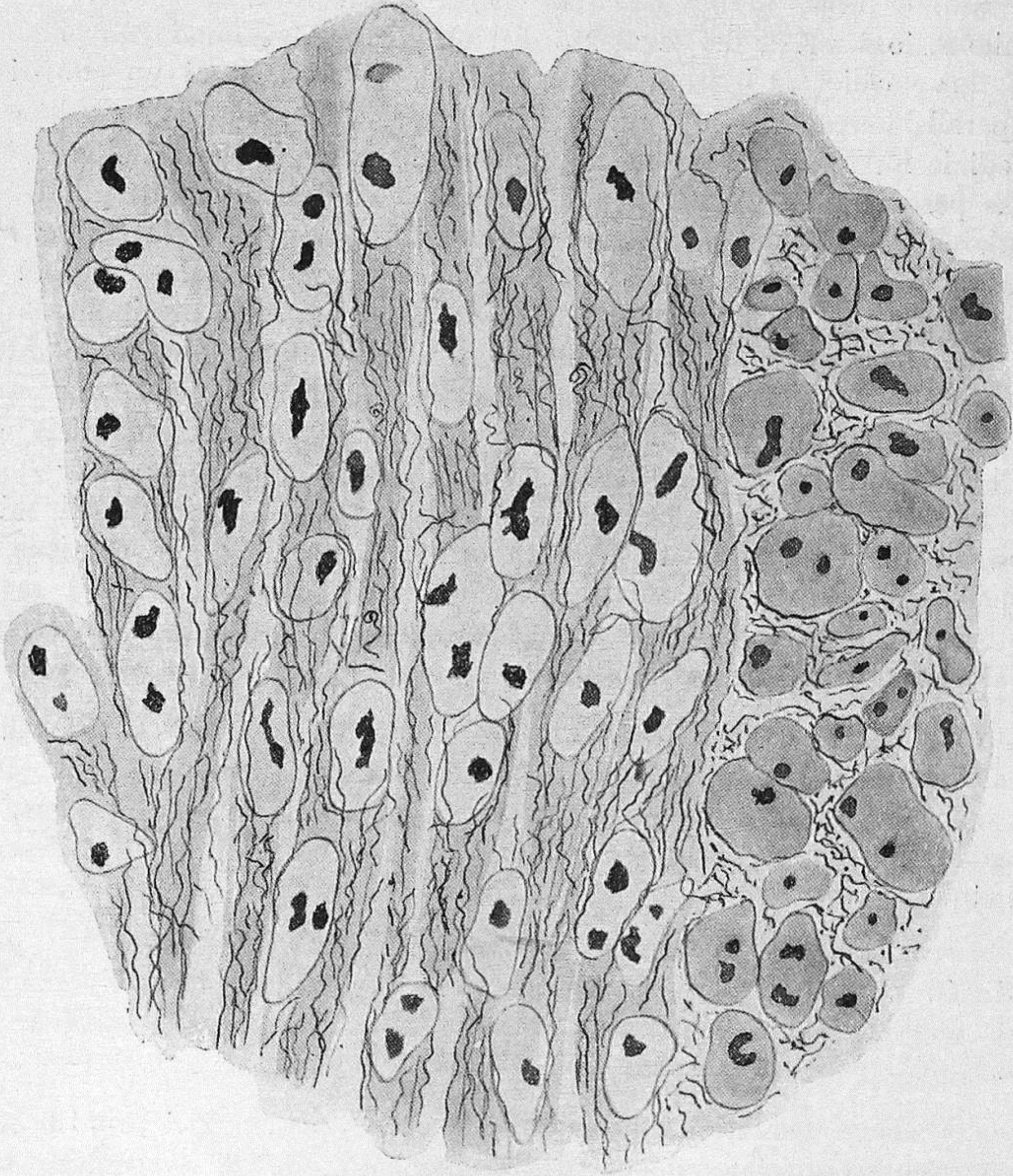


Fig. 16. Esp. CVII, embr. di 29 somiti, 73^a ora di incubazione. Sezione longitudinale del 6° miotomo. Fiss. Maximow. Color. Emat. ferr. Ingr. 1100 diam.

Esp. CXXVIII. — Embrione di ore d'incubaz. 62,30 somiti. I somiti più craniali, soglia cm. 4,5, contrazioni più evidenti al 3° miotomo, sono piuttosto lente, di escursione limitata, facilmente esauribili, si lasciano ripetere soltanto a intervalli di qualche secondo, periodo di eccitazione latente dura più di un secondo.

Sezioni condotte parallelamente alla superficie cutanea dei miotomi: miotomi di forma nettamente rettangolare, lunghi 150 μ , larghi 190 μ . I mio-

blasti che li costituiscono sono fusiformi, stipati, vanno da un'estremità all'altra del miotomo; nuclei ovalari vescicolosi, con uno o due grossi nucleoli, raccolti nella parte media del miotomo, il citoplasma ha gli stessi caratteri dell'embrione CVII^o, il condrioma molto ricco è costituito da condrioconti più brevi e più sinuosi, in più vi sono alcune lunghissime miofibrille lisce a decorso quasi rettilineo o lievemente ondulate (v. fig. 17).

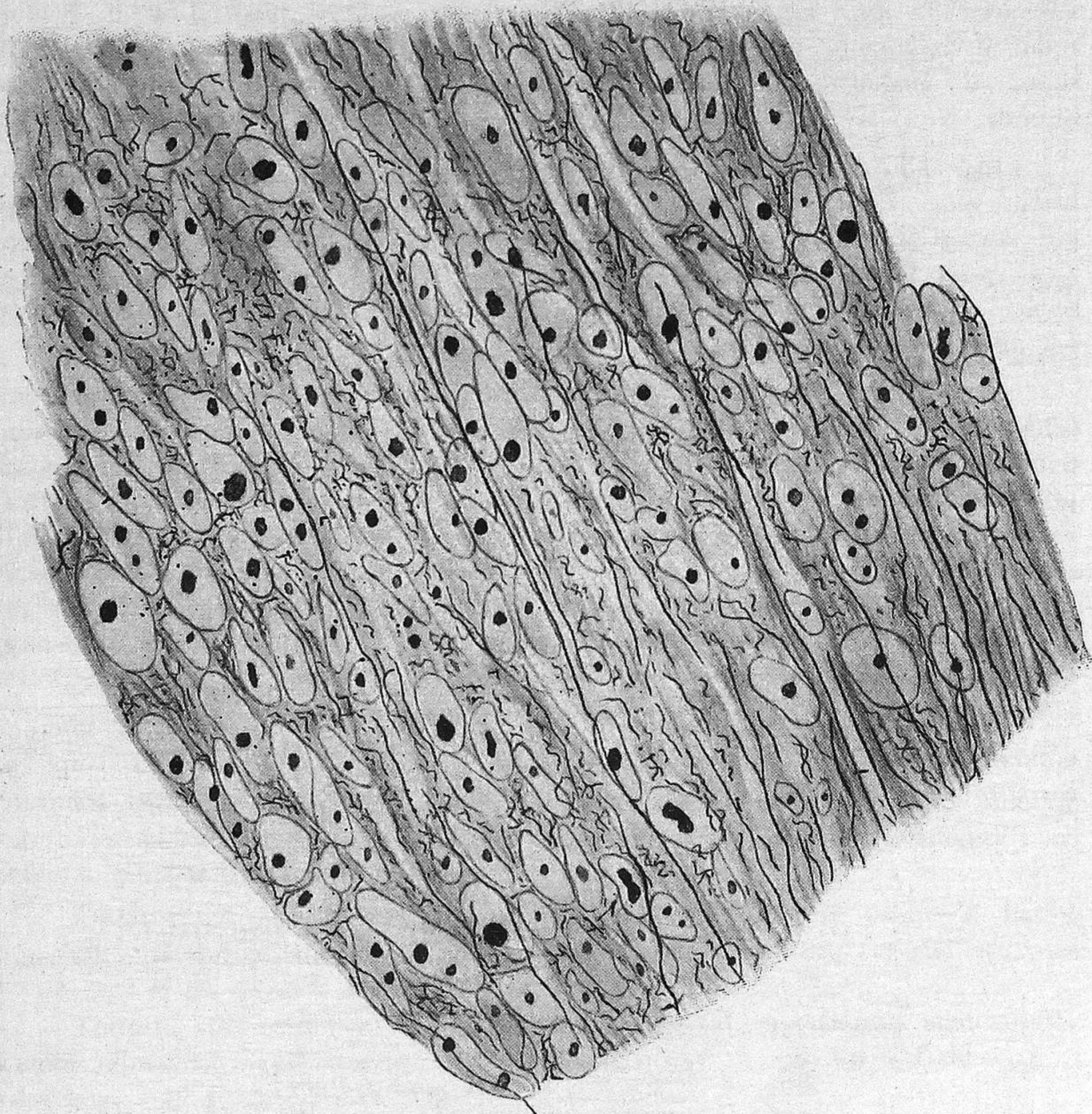


Fig. 17. Embr. CXXVIII, 30 somiti, 62 ore d'incub. Sezione longitudinale del 5° miotomo. Fiss. Maximow; Color. Emat. ferr. Ingr. 1100 diam.

Esp. CXXXV. — Embrione di ore d'incubaz. 63, 31 somiti, montato intero in plasma; per colpi di corrente indotta assai intensi: contrazioni molto lente, poco ampie.

Dopo 12 ore i miotomi sono più eccitabili e danno contrazioni un poco più valide.

Dopo altre 12 ore su tutta la periferia dell'embrione estesa zona di elementi migranti. L'eccitabilità dei miotomi è diminuita; rispondono soltanto a stimoli faradici con contrazioni assai lente.

Esp. CXXXII. — Embrione di ore d'incubaz. 67, 31 somiti. I miotomi più craniali sono eccitabili, soglia cm. 5.

Sulle sezioni i miotomi sono colpiti dal taglio un poco obliquamente rispetto al loro asse longitudinale, i loro caratteri sono assai simili a quelli dell'embrione CXXVIII.

Esp. CXLIX. — Embrione di ore d'incubaz. 66, 32 somiti; lunghezza dell'embrione 8 mm., amnios non completamente chiuso, diametro dell'area vascolosa 22 mm. Soglia a cm 3: contrazioni evidenti verso il 4° e 5° miotomo, di escursione piccola, lente, si esauriscono con grande facilità; dopo ogni scossa è necessario un riposo di parecchi secondi prima di ottenerne una seconda.

Esp. CL e CLI. — Ore d'incubaz. 66, 33 somiti, lunghezza degli embrioni mm. 7,5, amnios non completamente chiuso, eccitabilità dei miotomi più craniali, analoga a quella dell'embr. CXLIX. Sulle sezioni seriali (fissazione poco buona) i miotomi sono lunghi 210 μ . I mioblasti che li costituiscono sono fusiformi, mononucleati, cogli stessi caratteri citologici descritti per gli embrioni precedenti, non si vedono miofibrille.

Esp. CXIV. — Embr. di ore d'incubaz. 69, 33 somiti, lunghezza dell'embrione 8 mm. diametro dell'area vascolosa 26 mm. Furono espantati i primi 6 miotomi: soglia cm. 3,5, dopo ogni contrazione sono necessari alcuni secondi prima di ottenere una nuova risposta agli stimoli; dopo una decina di contrazioni bisogna attendere un paio di minuti prima che siano di nuovo eccitabili.

Miotomi del tronco (7°—33°). Si contraggono per stimoli elettrici il 7° e l' 8° miotomo. Dopo una trentina di contrazioni non reagiscono più.

Sulle sezioni seriali i miotomi più craniali sono lunghi 165 μ , i mioblasti contengono numerose miofibrille lisce, ondulate.

Esp. CLXIII. — Embrione di ore d'incubaz. 84, 33 somiti, i miotomi craniali, divisi con taglio sagittale, sono ineccitabili con semplici colpi di corrente indotta, colla stimolazione faradica si ottengono i seguenti risultati:

rocchetti a cm. 5,9	non reagiscono
„ „ „ 5,8	contrazione dopo $\frac{3}{5}$ — $\frac{4}{5}$ di sec.
„ „ „ 5,5	scossa dopo $\frac{1}{5}$ — $\frac{2}{5}$ „ „
„ „ „ 5	tempo latente appena apprezzabile
„ „ „ 3	tetano che dura pochi secondi, decontrazione lentissima

effetto della stimolazione faradica prolungata

rocchetti a cm. 5	una prima scossa dopo un tempo latente appena apprezzabile, una seconda scossa dopo 3 sec. una terza scossa dopo 8 secondi
„ „ „ 4,5	si ottengono due o tre scosse nei primi 10—12 sec. poi anche per più di un min. non si ottengono più scosse altro che interrompendo rapidamente la corrente faradica.
„ „ „ 4,5	seconda scossa dopo 10 sec.; per altri 46 sec. di ininterrotta stimolaz. faradica non si hanno più contrazioni; brevissima interruzione (nel circuito secondario); alla chiusura si ha una nuova scossa dei miotomi.

- rocchetti a cm. 4,5 Dopo la prima contrazione non se ne hanno altre per 67 sec., breve interruzione della corrente, alla ripresa si ha subito una nuova scossa.
- „ „ „ 4,5 Dopo ogni singola contrazione la corr. faradica viene interrotta rapidamente, si ottengono così sino a 34 contrazioni in un minuto.
- „ a distanza minore . . . si ottengono da 2 a 4 contrazioni successive a intervalli minori; e non si arriva mai alla decontrazione completa.
- „ a cm. 3 Tetano che dura pochi sec.

Esp. CXXI. — Embrione di ore d'incubaz. 65, 34 somiti, lunghezza dell'embrione mm. 7,5, diam. dell'area vascolosa mm. 20,5.

I miotomi 1^o—7^o: soglia cm. 5; si hanno contrazioni nel 6^o e 7^o miotomo, di escursione limitatissima, decontrazione assai lenta, appena percettibile, Tra una scossa e l'altra è necessaria una pausa di parecchi secondi.

Miotomi 8^o—34^o: soglia cm. 3, contrazione dell'8^o miotomo più valida delle contrazioni dei miotomi 6^o e 7^o, decontrazione lentissima.

Sezioni seriali sagittali: I miotomi sono colpiti molto favorevolmente dal taglio secondo l'asse longitudinale, parallelamente alla loro superficie cutanea; forma dei miotomi rettangolare, lunghezza 140 μ , larghezza 180 μ , i miotomi sono costituiti da mioblasti affusati, fortemente stipati, i loro limiti reciproci non sono facilmente apprezzabili, i mioblasti decorrono paralleli da un capo all'altro del miotomo; i loro nuclei ovalari, vescicolari, contenenti in prevalenza due grossi nucleoli, sono raccolti a livello del terzo medio dei miotomi; citoplasma colorato in grigio, piuttosto intenso, non del tutto omogeneo, aspetto pettinato longitudinalmente; condrioma poco appariscente; numerose miofibrille lisce, ondulate, percorrono i miotomi in tutta la loro lunghezza.

Esp. CXXXVIII. — Embrione di ore d'incubaz. 76, 35 somiti. Montato intero in plasma; reagisce a colpi di corrente indotta d'apertura con contrazioni piuttosto vivaci.

Trattato con soluzione di veratrina 1:100 000, in alcuni somiti si hanno ad ogni colpo di corrente indotta due contrazioni molto ravvicinate, tra l'una e l'altra non si arriva alla decontrazione completa.

Trattato con soluzione di veratrina 1:50 000: ad ogni colpo di corrente indotta i miotomi si arrestano in contrazione per qualche secondo e poi si rilasciano con grande lentezza.

Trattato con soluzione di veratrina 1:20 000: non reagiscono più agli stimoli elettrici.

Sezioni seriali sagittali: i miotomi misurano 180 μ di lunghezza, i singoli mioblasti che li costituiscono sono sempre fortemente stipati, e i loro limiti non sono bene apprezzabili. Le miofibrille lisce sono molto aumentate di numero, sembrano distribuite quasi uniformemente in tutto il corpo dei mioblasti; la sostanza interfibrillare è notevolmente più chiara e di aspetto più omogeneo che negli embrioni meno sviluppati; qua e là vi sono alcune miofibrille un poco più grosse delle altre trasversalmente striate; in quanto all'aloro minuta struttura esse hanno calibro uniforme e sono distintamente apprezzabili

i segmenti chiari e segmenti intensamente colorati, tutti circa della stessa altezza che si alternano con regolarità nel senso della lunghezza.

Esp. CXL. — Embrione di ore d'incubaz. 71, somiti 35. Si ottengono contrazioni piuttosto valide a livello del 6° e 7° miotomo, struttura dei miotomi simile a quella dell'embrione precedente, meno numerose le miofibrille striate.

Esp. CXLV. — Embrione di ore d'incubaz. 70, 35 somiti, le contrazioni più valide sono a livello del 5°—6° somite.

Esp. CVIII. — Embrione di ore d'incubaz. 71½, 36 somiti, lunghezza dell'embrione 7 mm.; diam. area vascolosa 25 mm. Soglia 6 cm., le contrazioni si estendono sino al 10° miotomo, sono facilmente esauribili, dopo ogni 3—4 scosse i miotomi sono ineccitabili per alcuni secondi.

Esp. CXXXVI. — Embrione di ore d'incubaz. 72, 38 somiti. Si constatano contraz. sino al 13° miotomo.

Esp. CXLII. — Embrione di ore d'incubaz. 83, somiti 38; si constatano contraz. sino al 14° miotomo.

Esp. CII. — Embrione di ore d'incubaz. 78, 40 somiti, lunghezza dell'embrione 8 mm. Soglia 6 cm.; contraz. abbastanza più rapide di quelle osservate negli embrioni precedenti, breve arresto in contrazioni e decontrazione un poco più lenta della contrazione. Dopo un certo numero di stimolazioni l'ampiezza delle contrazioni diminuisce e il rilasciamento avviene in modo sempre più lento e incompleto. Dopo una ventina di contrazioni i miotomi sono ineccitabili per qualche secondo, aumentando l'intensità degli stimoli le contrazioni si estendono a un numero sempre maggiore di miotomi. Le contrazioni si estendono sino al 22° miotomo.

Sulle sezioni seriali sagittali i mioblasti contengono miofibrille lisce molto numerose e in mezzo a queste alcune miofibrille striate.

Esp. CI. — Embrione di ore d'incubaz. 83, 40 somiti, lunghezza dell'embrione 8 mm diam. area vascolosa 30 mm. Soglia 4 cm., contrazioni abbastanza rapide con breve arresto in contrazione. Dopo 10 stimolazioni ottenute a intervallo regolare di un secondo, le contrazioni si fanno più deboli e cessano per ricomparire dopo alcuni secondi di riposo. Il tetano dura al massimo 1—2 sec.

Sulle sezioni sagittali i mioblasti dei primi 10 miotomi contengono numerose miofibrille lisce e qualche rara miofibrilla striata; condrioma molto evidente piuttosto abbondante, costituito da condrioconti non molto lunghi, fortemente ondulati.

Esp. CXXXIV. — Embrione d'ore d'incubaz. 81, 40 somiti, montato intero in plasma, per colpi di corrente indotta d'apertura a 4 cm. si contrae contemporaneamente un numero grande di miotomi. Il centro di contrazione sta tra il 7° e l'8° miotomo, e verso questo punto viene stirata la catena di miotomi più craniali e più caudali. Per stimolazione faradica si ottiene un movimento alternato ad armonica della serie dei miotomi, sono sicuramente contrattili almeno tutti i primi 18 miotomi.

Esp. CXXXVII. — Embrione d'ore d'incubaz. 75, 40 somiti. La stimolazione elettrica dell'embrione in sito, fatta attraverso una finestra aperta nel guscio dell'uovo non dà effetti apprezzabili all'esame fatto con una lente.

Raccolto l'embrione in goccia pendente di Ringer esso si presenta fortemente incurvato ventralmente, gli stimoli elettrici sono inefficaci.

Montato in plasma, in leggera estensione, si ottengono coll'eccitamento elettrico risultati analoghi a quelli dell'embrione precedente; il centro della contrazione sta tra l'8° e il 9° miotomo.

Esp. CXLI. — Embrione d'ore d'incubaz. 80, 40 somiti, lunghezza dell'embrione 8 mm., diam. area vascolosa 30 mm.; asportato l'amnios, il cuore e la testa, montato in plasma, in atteggiamento di flessione ventrale. Stimolazione elettrica inefficace.

Montato nuovamente in plasma in estensione (superficie dorsale disposta in modo quasi rettilineo) i miotomi cervicali rispondono con contrazioni abbastanza vivaci a colpi di apertura, cm. 5.

Esp. CIX. — Embrione ore d'incubaz. 72, 41 somiti, lunghezza dell'embrione 9 mm. Si esaminano separatamente vari segmenti dell'embrione:

Somiti 1°—4° soglia 6 cm.

Somiti 5°—10° soglia 7 cm., contrazioni più vivaci e più valide.

Somiti 11°—16° (livello abbozzo arti superiori) soglia 6 cm.

Somiti 17°—24°: soglia 6 cm. Si ottengono contrazioni a una sola estremità (17°—19° miotomo). Le contrazioni di questi miotomi sono più lente e assai più facilmente esauribili di quelle degli altri miotomi; dopo 5—6 contrazioni successive sono ineccitabili per alcuni secondi.

Somiti 25—41 ineccitabili.

Esp. CLXV. — Embrione d'ore d'incubaz. 96; più di 40 Somiti; i miotomi più craniali divisi con taglio sagittale.

Eccitabilità galvanica: alla chiusura del circuito è più intensa la scossa muscolare al catodo; all'apertura è più intensa all'anodo.

Stimolazione faradica intensa: tetano che dura pochi secondi.

Stimolazione faradica debole: si hanno contrazioni ritmiche.

Dopo la stimolazione elettrica si osservano contrazioni spontanee irregolari.

Esp. XCVI. — Embrione d'ore d'incubaz. 98, più di 40 somiti, miotomi 1°—5° soglia 5,5 cm.

Miotomi 6°—30° soglia 8 cm. Le contrazioni si estendono sicuramente sino al 20° miotomo almeno.

Nelle sezioni seriali sagittali i miotomi misurano in lunghezza 300 μ , i singoli mioblasti si sono allungati quanto il miotomo, molti di essi conservano un unico nucleo con uno o due grossi nucleoli, molti altri invece contengono nel loro asse numerosi nuclei più piccoli a mutuo contatto; alla loro periferia i mioblasti contengono numerose miofibrille lisce, disposte in fascetti ondulati; abbastanza frequenti le miofibrille striate, completamente differenziate (v. fig. 18); esse sono più grosse di quelle osservate negli stadi precedenti e si conservano benissimo anche con fissazioni in Zenker-formolo. In una metà di questo embrione fissato in Zenker-formolo le fibrille striate risaltano anche meglio sul sarcoplasma e sulle fibrille lisce contigue che nella metà fissata in Maximow.

Esp. CXXXIX. — Embrione di ore d'incubaz. 102, 49 somiti, miotomi 1°—10°: soglia 6 cm., con stimoli sottominimali ripetuti a intervalli regolari di un secondo si ottengono pure contrazioni.

A cm. 6,3 si ottiene la contrazione dopo 2 colpi di corr. ind. ap.

„ „ 6,5 „ „ „ „ „ 4—5 „ „ „ „ „

Stimolazione faradica a cm. 5: si ottiene tetano completo dei miotomi 4^o—10^o, mentre i miotomi 1^o—3^o si contraggono ritmicamente 10—12 volte in 10 sec. Il tetano dura anche più di 1^o 10 sec. ma cede appena cessata la stimolazione.

Con stimolazione faradica meno intensa si ottengono contrazioni ritmiche a ritmo irregolare di tutti i miotomi.

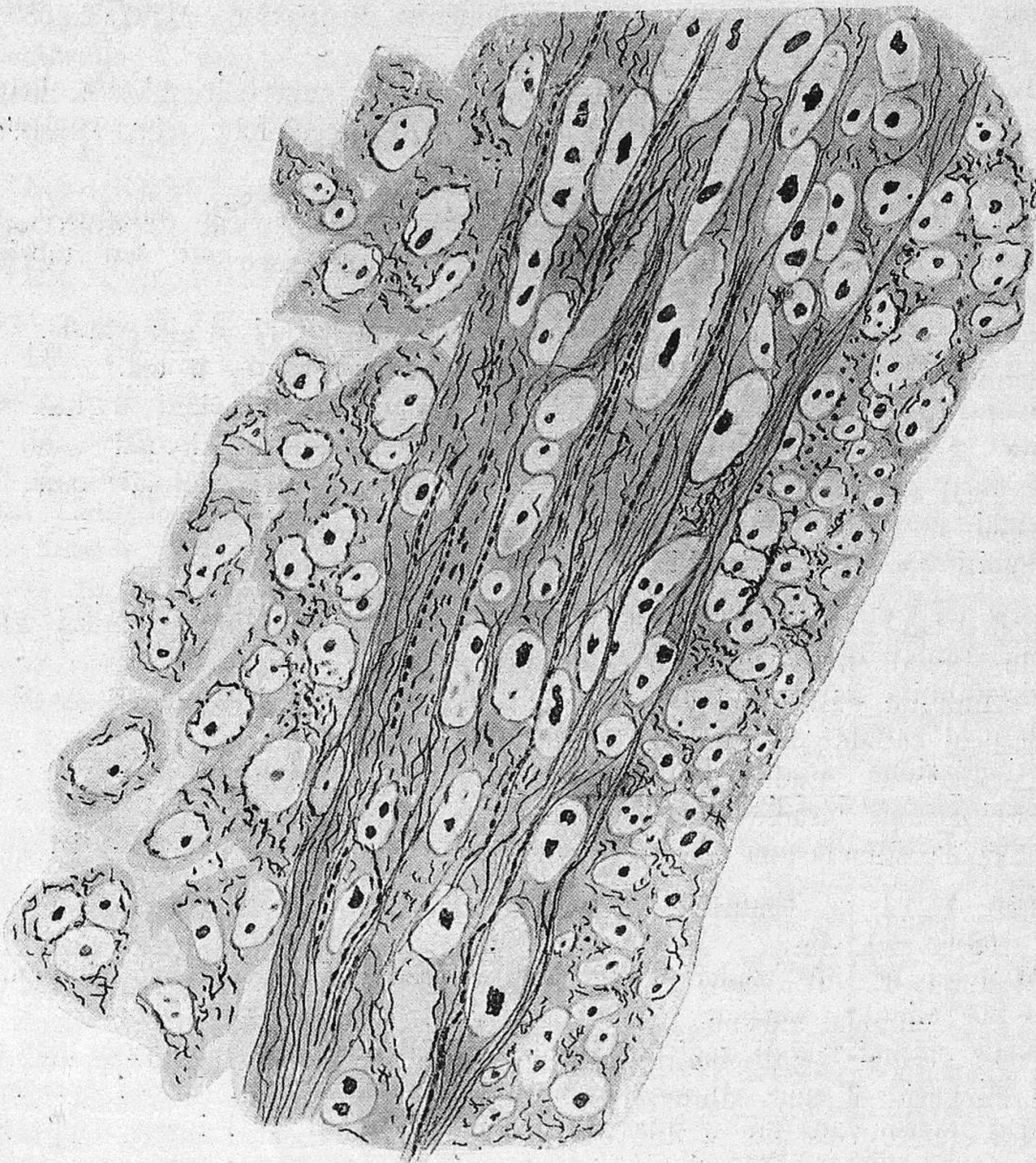


Fig. 18. Embr. XCVI, più di 40 somiti, 98 ore d'incub. Sezione longitud. di un miotomo del tronco. Fiss. Maximow. Color. Emat. ferr. Ingr. 1100 diam.

Rocchetti a cm. 6,2 in 2 min. 31 contraz. (18 nel 1^o min.)

„ „ „ 6,3 „ 1 „ 16 „

„ „ „ 6,5 „ 1 „ 3 „ (a distanza di 5 sec. una dall'altra)

„ „ „ 7 „ 1 „ 1 sola contraz. all' inizio; alla fine del minuto si ottiene una seconda contrazione senza interrompere la stimolaz. faradica avvicinando i rocchetti a cm. 6, 7

Rocchetti a cm. 7 in 1 min. interrompendo brevemente la stimolaz. faradica ogni 10 sec. si ottengono 6 contraz.

Esp. XCVII. — Embrione di giorni 5 d'incubaz., lunghezza 13 mm. Miotomi cervicali: soglia 5,5 cm., le contrazioni sono valide e abbastanza rapide, dopo l'eccitamento si hanno contrazioni spontanee.

Sulle sezioni (fissazione in Zenker-formolo) si riconoscono lunghe fibre muscolari, contenenti numerosi fascetti di miofibrille, in prevalenza striate, poste alla periferia della fibra; nel mezzo numerosi nuclei ovalari vescicolari; il sarcoplasma è ancora abbondante. Tra le singole fibre muscolari vi sono numerosi elementi piccoli indifferenziati.

Esp. CXVII. — Embrione di giorni 6 $\frac{1}{2}$ d'incubaz., muscoli del collo, si osservano contrazioni spontanee molto rapide, limitate a fascetti singoli di fibre. Soglia cm. 7.

Trattato con veratrina soluz. 1:100 000, soglia 6 cm., l'ultima parte della contrazione si fa più lenta. Dopo alcuni secondi le singole scosse ottenute con i rocchetti a cm. 5,5 sono bicuspidate, soltanto qualche scossa è semplice. Dopo alcuni secondi le scosse sono di nuovo semplici, ma la fase espansiva si è molto prolungata, dura più di due secondi.

Trattato con soluzione di veratrina 1:50 000: è ineccitabile.

Esp. CXI. — Embrione di g. 7 d'incubaz. Muscoli regione posteriore del collo; già dall'osservazione del tessuto vivente risultano costituiti da grosse fibre parallele. Soglia cm. 5, contraz. molto rapide ed ampie, tempo d'eccitazione latente inapprezzabile; con stimoli ripetuti a intervallo regolare di un secondo si ottengono sino a 60 contrazioni successive, continuando a stimolare collo stesso ritmo, rispondono con una contrazione soltanto ogni 2 o 3 colpi di corrente indotta. Tetano dura qualche secondo; cede appena cessato lo stimolo.

Esp. XCIX. — Embrione di g. 12. Muscoli del collo, soglia 7 cm. Con colpi di corrente indotta ripetuti ad intervalli di 1 sec. si ottengono sino a 260 contraz. (Dopo la 150^a decrescono un poco di ampiezza.) Tetano dura più di 15—20 sec., cede in qualunque momento non appena cessa lo stimolo.

B. Considerazioni.

a) Inizio ed evoluzione della contrattilità dei miotomi; loro rapporti con la differenziazione istologica dei miotomi.

I primi movimenti spontanei dell'embrione di pollo incominciano secondo le note ricerche di Preyer ('87) nella prima metà del 5^o giorno d'incubazione. Le prime contrazioni provocabili da eccitamenti artificiali furono constatate da Weiss ('99) soltanto al 6^o giorno d'incubazione. Tanto in queste osservazioni quanto in quelle fatte da altri autori sulla contrattilità dei miotomi nelle larve di Anfibi e di Pesci, si osservarono e si registrarono graficamente i movimenti eseguiti da tutto il corpo embrionale. Eviden-

temente per raggiungere un tale effetto la sostanza contrattile deve costituire già una massa cospicua, estesa a tutto il tronco e funzionalmente abbastanza evoluta, poichè diversamente la sua azione potrebbe essere del tutto o quasi inefficace a produrre movimenti esterni registrabili. Volendo perciò stabilire il rapporto esistente tra evoluzione strutturale e l'inizio della contrattilità era necessario trovare un mezzo tecnicamente adeguato per osservare con facilità anche le più piccole, deboli, e lente contrazioni possibili. A priori si potevano senz'altro scartare i comuni metodi di registrazione grafica tanto dell'accorciamento quanto delle curve di spessore, non soltanto per l'estrema delicatezza del materiale (consistenza molle, gelatinosa e grande lacerabilità) ma anche per la piccolezza dei segmenti contrattili; alla fine del 4^o giorno d'incubazione i miotomi non misurano ancora più di 300 μ di lunghezza, e hanno uno spessore massimo di 40—45 μ . Ricorsi perciò con risultato molto sodisfacente al metodo delle colture in vitro come ho riferito a pag. 430. Ricorsi a questa tecnica specialmente per avere la possibilità di fare le osservazioni con forti ingrandimenti sul materiale visto per trasparenza, prevedendo l'ampiezza assai piccola delle prime contrazioni; soltanto nel corso degli esperimenti mi accorsi che con essa risolvevo pure alcune difficoltà tecniche che non avevo previsto, e fra queste la principale quella di fissare gli elementi contrattili in estensione e di fornire loro un carico adeguato.

Gli esp. CXXXVII e CXLI sono molto dimostrativi al riguardo: in mezzo liquido non ho mai potuto osservare la contrattilità, perchè il tessuto contrattile è privo di carico, come non la potei osservare negli embrioni fissati in flessione perchè i miotomi non sono distesi; il coagulo di plasma nel quale il corpo dell'embrione è contenuto non ha soltanto la funzione di mantenerlo fisso ma anche quella di formare un involucro elastico che offre alle modificazioni di forma indotte dalle contrazioni una resistenza proporzionale alla forza contrattile, e dopo avvenuta la scossa, esso riporta le parti dell'embrione nella posizione di riposo. Con tale metodo potei dimostrare che la contrattilità dei miotomi, per stimoli elettrici, compare notevolmente prima di quanto non fosse ammesso sino ad ora, cioè allo stadio di 27—28 somiti, tra la 60^a e 65^a ora d'incubazione a 38°—39°.

Nei singoli preparati anche di embrioni interi, viventi, sono facilmente riconoscibili i limiti dei singoli miotomi, che hanno

forma rettangolare e disposizione nettamente segmentale; ma non si può farsi un criterio della loro struttura minuta che dai preparati per sezioni al microtomo. Le contrazioni avvengono sempre in direzione cranio-caudale; esaminando frammenti di embrione interessanti un numero limitato di miotomi, le contrazioni sono più evidenti alle due estremità libere, dove si ottiene uno stiramento del coagulo del plasma; quando si contrae un certo numero di miotomi, per avere il materiale contrattile una sede piuttosto ventrale, l'effetto complessivo è di aumentare la curvatura a convessità dorsale del segmento in esame; pertanto invece le stimolazioni sugli embrioni interi, fissati su tutta la superficie esterna del corpo dal coagulo di plasma si ha un movimento ad armonica di tutti i miotomi più craniali, contrattili.

La contrattilità incomincia a manifestarsi dapprima nei miotomi più craniali per estendersi presto in senso caudale a un numero sempre maggiore di essi. In quanto alle modificazioni dei caratteri delle contrazioni durante lo sviluppo, quali si possono desumere dalla semplice osservazione, ricorderò soltanto quelle che mi risultarono in modo chiaro e costante. Allo stadio di 27—29 somiti (v. Esp. dal CXXII al CXXVIII) si incomincia a poter dimostrare l'inizio della capacità contrattile; le singole contrazioni sono assai torpide tanto nella fase contrattiva che nella fase della decontrazione; l'ampiezza delle contrazioni è minima, appena percettibile a un ingrandimento di 400—500 diametri, pure essendo i miotomi lunghi circa 150 μ ; l'eccitabilità è molto scarsa, molto spesso non bastano neanche i più intensi colpi di corrente indotta, e bisogna ricorrere a stimoli faradici; anche usando stimoli faradici molto intensi i miotomi si ridistendono non appena raggiunto il massimo accorciamento possibile, per cui sembra impossibile poter ottenere il tetano; l'ampiezza e la forma delle contrazioni è sempre la stessa, qualunque sia l'intensità e la qualità dello stimolo elettrico; il periodo di eccitazione latente è valutabile sino ad 1—2 sec.; i mioblasti sono assai facilmente esauribili, dopo una o due contrazioni restano ineccitabili per qualche minuto, è certamente a questa grande esauribilità che si deve l'impossibilità di ottenerne il tetano; non ho mai osservato contrazioni spontanee neanche dopo ripetute stimolazioni elettriche. Il trattamento con soluzione di veratrina abolisce assai rapidamente l'eccitabilità.

I miotomi in questo stadio sono costituiti da elementi affusati lunghi circa 150 μ , con un solo nucleo vescicoloso, nel loro cito-

plasma ci sono numerosi condrioconti lunghi, ondulati, orientati parallelamente all'asse cellulare, tutto il citoplasma ha un aspetto pettinato più o meno evidente nel senso della lunghezza, non vi sono dimostrabili miofibrille di sorta (v. fig. 16).

Allo stadio di 30—34 somiti (v. Esp. dal CXXVIII al CXXXVIII) le contrazioni sono più facilmente dimostrabili, perchè un poco più rapide e più ampie. La decontrazione è sensibilmente più lenta della contrazione, l'eccitabilità è parecchio aumentata; tranne che in rari casi si ottengono scosse con un solo colpo di corrente indotta; l'esauribilità di questi miotomi per quanto un poco minore che nello stadio precedente è pur sempre notevole; fra le singole contrazioni o piccoli gruppi di contrazioni ci vuole un intervallo di qualche secondo perchè si ristabilisca l'eccitabilità; il tetano è di durata assai breve (pochi secondi). I miotomi in questo stadio si sono un poco allungati e nei singoli mioblasti si sono andate differenziando numerose miofibrille lisce, non vi sono ancora miofibrille striate (v. fig. 17).

Allo stadio fra i 35—40 somiti (v. Esp. dal CXXXVIII al CIX) si osserva che la contrattilità si estende caudalmente a un numero sempre più notevole di miotomi, le contrazioni dei miotomi più craniali, i quali si sono ulteriormente allungati, sono diventate più rapide, specialmente nella fase contrattiva, e la loro ampiezza è cresciuta di molto; in quasi tutti i preparati si apprezza molto nettamente un breve arresto dei miotomi in contrazione; pure la facile esauribilità dei miotomi va gradualmente diminuendo, e si può ottenere a brevi intervalli di tempo un numero sempre maggiore di contrazioni; col subentrare della stanchezza si osserva una certa tendenza alla contrattura (esp. CII); non posso precisare la durata del periodo di eccitazione latente, essa è però ancora subiettivamente apprezzabile a qualche decimo di secondo; il tetano è ancora di durata breve, qualche secondo al massimo; la veratrina già allo stadio di 35 somiti esplica la sua azione tipica (esp. CXXXVIII). L'evoluzione strutturale dei miotomi è nel frattempo ulteriormente progredita; i mioblasti che sono tuttora tra loro indipendenti (per la dimostrazione decisiva dell'indipendenza dei mioblasti al 3^o—4^o giorno d'incubazione vedi G. Levi '25) si sono ancora allungati e in mezzo alle miofibrille lisce, divenute molto numerose, sono comparse le prime miofibrille trasversalmente striate (v. fig. 18). Dopo il 4^o—5^o giorno d'incubazione le contrazioni diventano molto più rapide

e valide, il periodo di eccitazione latente non è più apprezzabile subiettivamente; l'eccitabilità è notevolmente aumentata, spesso si osservano contrazioni spontanee, appena fatto il preparato (esp. CXVII); contrazioni spontanee si hanno quasi costantemente dopo ripetute stimolazioni elettriche; l'esauribilità dei miotomi diventa sempre minore, al 7^o giorno d'incubazione si possono ottenere contrazioni ritmiche a intervalli di un sec. per più di un minuto di seguito (esp. CXI). A dodici giorni per più di 4 min. (esp. XCIX); pure la durata del tetano si allunga sensibilmente. La veratrina esplica la sua azione tipica come già nell'embrione a 35 somiti.

Dopo il 4^o g. d'incubazione comincia a scomparire la costituzione segmentale dei miotomi, essi contengono già vere e proprie fibre muscolari polinucleate cilindriche, in cui vanno diventando sempre più numerose le fibrille striate.

Risulta quindi che tanto la struttura quanto la contrattilità si evolvono per gradi insensibili. Il dato di maggior interesse è certamente l'istituirsi della contrattilità dei miotomi prima che sia iniziata la differenziazione dell'elemento specifico del muscolo volontario, la miofibrilla; anche nel materiale destinato a costituire la muscolatura scheletrica, come nel cuore, la capacità funzionale precorre la differenziazione delle miofibrille, quindi anche per questa categoria di mioblasti bisogna ammettere che le prime contrazioni siano di natura puramente sarcoplasmatica.

Engelmann '75 riteneva che per la contrazione non fossero indispensabili le miofibrille ma la birefrangenza; però tanto le sue osservazioni istologiche quanto le osservazioni sull'inizio della contrattilità, devono essere sottoposte a revisione; basti il fatto che per il pollo dà le prime contrazioni e la comparsa della birefrangenza del cuore nel corso della 2^a giornata d'incubazione, „quando è già formato il primo sangue“, mentre sappiamo che tanto le contrazioni quanto le prime miofibrille striate compaiono assai prima; per le fibre muscolari volontarie osserva pure contrazioni e birefrangenza soltanto al 5^o—6^o giorno (pag. 457—58). Non mi sono ancora occupato della birefrangenza, ma temo però che la sua dimostrazione, quando essa sia di grado minimo, sia tecnicamente assai più difficile della dimostrazione delle prime esilissime miofibrille; del resto critiche alla teoria dell'Engelmann non mancarono, vedi tra l'altro le giuste obiezioni di Enriques '911.

Il mio risultato non deve sorprendere, la sua possibilità era già prevista dalla dottrina del Bottazzi ('97—'15) sul dualismo funzionale dei muscoli. Allo scopo di portare un nuovo contributo in favore di tale teoria, che è già convalidata da numerosi dati sperimentali, volli saggiare l'azione della veratrina. Sarebbe stato molto interessante poter dimostrare che nei miotomi, prima della differenziazione delle miofibrille è impossibile ottenere per stimoli semplici i due accorciamenti successivi da veratrina. Ho ripetuto più volte quest'esperimento su embrioni molto precoci, i cui miotomi già contrattili non contenevano ancora miofibrille (come potei stabilire dal successivo esame istologico) ma dopo il trattamento con soluzioni più o meno diluite di veratrina il preparato mi è risultato sempre ineccitabile; non ho potuto decidere se ciò dipendesse dalla grande esauribilità del preparato o da altri fattori.

Per i mioblasti cardiaci all'inizio della loro attività contrattile ritmica, quando essa è ancora di natura puramente sarco-plasmatica ho notato la stessa grande sensibilità di fronte agli agenti chimici e fisici dannosi (vedi parte 1^a di questo lavoro e Olivo '924).

All'opposto constatai costantemente nei miotomi, per l'azione di soluzioni deboli di veratrina, il caratteristico doppio accorciamento, non appena divengono apprezzabili le miofibrille (dallo stadio a 35 somiti, vedi esp. CXXXVIII), in alcuni casi osservai pure contrazioni ritmiche spontanee irregolari dopo l'avvelenamento da veratrina. Perciò quanto afferma Bottazzi (1915) che non sussistono differenze qualitative degne di nota nell'azione della veratrina fra muscoli fetali ed adulti vale solamente per la muscolatura nella quale sono apparse le miofibrille.

Per quanto, all'inizio della capacità contrattile, gli elementi costituenti i miotomi siano sprovvisti dell'elemento specifico della fibra muscolare volontaria, hanno però già una fisionomia affatto caratteristica che permette di riconoscerli, verso la 60^a ora d'incubazione come ha dimostrato Duesberg e come io posso confermare; gli elementi che costituiscono la lamina interna dei miotomi, e che sino a poco prima avevano caratteri affatto indifferenti di cellule epiteliali, cominciano ad allungarsi nel senso cranio-caudale, sino a raggiungere il limite che divide un miotomo dall'altro; stando alle mie osservazioni la contrattilità di questi mioblasti è dimostrabile soltanto quando hanno raggiunto la lunghezza notevole di 140—150 μ ; ritengo quindi

che per i mioblasti dei miotomi, l'assunzione della forma di fusi molto allungati sia indispensabile all'istituirsi della funzione; certamente esso è il carattere più evidente. Però la sola forma del mioblasta non è sufficiente a render ragione della sua contrattilità; à certamente importanza pure una differenziazione chimica e strutturale del suo citoplasma. Se per spiegare la contrattilità del sarcoplasma è ovvio ammettere che esso abbia una particolare costituzione chimica e una determinata architettura e struttura molecolare, non è però necessario pretendere che tale struttura sia istologicamente dimostrabile. Sarebbe quindi improprio dire che il protoplasma indifferenziato dei mioblasti sia contrattile; osservando il graduale istituirsi e intensificarsi della capacità contrattile sarcoplasmatica, bisogna ammettere invece che anche il sarcoplasma come gli altri costituenti morfologici della fibra muscolare adulta vada progressivamente differenziandosi nella sua intima struttura, ma che tale differenziazione non sia passibile di dimostrazione istologica. Nei mioblasti dei miotomi un indice, per quanto vago, di tale differenziazione noi l'abbiamo in quell'aspetto longitudinalmente pettinato del citoplasma di cui ho già fatto cenno nel descrivere i preparati; è difficile precisarne il significato, forse è dovuto in parte all'azione del fissativo, ma certamente esso sta a dimostrare per lo meno un particolare orientamento molecolare del citoplasma. Forse questo primo grado indistinto di differenziazione è raggiunto per mezzo di una distensione passiva dei mioblasti (vedi quanto segue a pag. 492) ed è un fenomeno puramente fisico analogo a quello che in varie sostanze amorfe soggette a trazioni o pressioni diverse nei vari piani dello spazio, determina l'insorgenza della birefrangenza. Ricorderò che un analogo aspetto finemente e indistintamente striato può essere temporaneamente osservato nel citoplasma vivente delle cellule coltivate in vitro, quando il processo di migrazione avviene in modo molto rapido; in tal caso tutte le inclusioni cellulari possono assumere orientazioni particolari, i mitocondri ondulati e disposti con varia obliquità diventano più rigidi e si dispongono secondo l'asse cellulare e i minuti granuli distribuiti in accumuli irregolari si dispongono in catene regolarissime (Oliyo '925). L'analogia con l'aspetto del sarcoplasma dei mioblasti è molto suggestiva.

È possibile che il mioblasta sia contrattile anche un poco prima di quanto lo potei dimostrare nei miei esperimenti, però le differenze non possono essere che piccole e trascurabili se si tien conto della scarsissima eccitabilità dei miotomi allo stadio di 27—28 somiti, e

dell'ampiezza minima delle loro contrazioni; mentre i muscoli striati possono dare degli accorciamenti massimi che arrivano al 60—80 % della loro lunghezza e lo stesso vale per i muscoli lisci, in questi miotomi a dir molto si arriva ad accorciamenti del $1\frac{1}{2}$ —1 %.

Da questo momento tanto la capacità funzionale quanto la struttura dei mioblasti vanno gradualmente evolvendosi, però tanto le modificazioni nei caratteri delle contrazioni (latenza, velocità, ampiezza, eccitabilità ecc.) quanto la progressiva complicazione strutturale (differenziazione di fibrille lisce e striate) avvengono in modo così graduale che è difficile se non impossibile stabilirne con precisione i rapporti.

Non insisterò su quanto riguarda il processo di differenziazione delle miofibrille; ricorderò soltanto che in accordo colle osservazioni di Duesberg numerose fibrille omogenee vanno differenziandosi durante il 3° giorno d'incubazione, sicchè esse sono già numerose allo stadio di 30 somiti (esp. CXXVIII) e a distanza di poche ore, allo stadio di 35 somiti si possono già dimostrare miofibrille striate (esp. CXL e CXXXVIII) nei mioblasti ancora mononucleati.

Come nel cuore anche nei miotomi non posso che ripetere che le fibrille primitive sono perfettamente omogenee; la striatura trasversale comincia a comparire in alcune fibrille tra la 70^a e 80^a ora d'incubazione, un poco prima di quanto non fosse ammesso da Duesberg (90^a—100^a ora); in alcuni preparati potei confermare l'osservazione di Asai che la differenziazione dei dischetti oscuri non avviene contemporaneamente su tutta la lunghezza della miofibrilla. Per l'ulteriore evoluzione delle miofibrille c'è poco o nulla da aggiungere alle accurate osservazioni di Duesberg; non è qui il caso di discutere sull'interpretazione delle varie immagini che presentano le fibrille embrionali striate in questi stadi, se esse corrispondano veramente a diverse tappe evolutive come è ammesso da Duesberg (vedi il suo schema a pag. 647) o se in parte almeno non siano differenze funzionali: fibrille contratte e rilasciate; l'argomento richiederebbe ricerche assai più minuziose dirette a questo preciso intento.

Ad eccezione della contrazione tipica da veratrina, che diventa dimostrabile soltanto dopo la differenziazione delle miofibrille, non vi ha nessuna altra modificazione della contrazione che si possa con sicurezza attribuire alle sole miofibrille; certamente coll'aumentare di numero delle miofibrille e col loro perfezionarsi strutturalmente noi osserviamo aumentare l'eccitabilità dei miotomi, divenire

minore il tempo di eccitazione latente, farsi la contrazione più rapida, diminuire l'esauribilità grande dei miotomi; ma non si può precisare quanta parte in questa progressiva evoluzione funzionale vi prenda pure il sarcoplasma. Le primissime contrazioni sarcoplasmatiche sono qualcosa di assai rudimentale, esse dimostrano la contrattilità del sarcoplasma, non servono però a stabilire i caratteri e la funzione del sarcoplasma nella fibra adulta perchè, molto prima che esso abbia raggiunta la sua definitiva evoluzione (evoluzione che può anche non essere eguale in tutti i vari tipi di fibre muscolari), si vanno differenziando le miofibrille.

b) Tempo di eccitazione latente; sommazione degli stimoli; contrazioni ritmiche; legge del tutto o del nulla nei miotomi.

Oltre alle caratteristiche già rilevate sulla precoce contrattilità dei miotomi voglio far notare ancora alcuni dati di un certo interesse. La durata del tempo di eccitazione latente negli embrioni di 27—30 somiti è di parecchi decimi di secondo, raggiunge e supera in ciò la durata del periodo determinato per i muscoli lisci; nei miotomi degli Anfibi invece Galeotti e Levi '913 non osservarono mai periodi di eccitazione latente che superassero i centesimi di secondo: ciò è probabilmente in rapporto col fatto che i miotomi degli Anfibi, a differenza di quelli del pollo contengono sin dall'inizio della funzione contrattile miofibrille; anche nel pollo colla comparsa delle fibrille il tempo latente si riduce rapidamente.

I miotomi all'inizio della loro funzione possiedono pure in alto grado la capacità di sommare gli stimoli. Già Richet aveva stabilito che per ottenere tale addizione latente c'è un minimo di intensità dello stimolo sottominimale e un minimo di rapidità nel ritmo degli eccitamenti elettrici. Steinach 1908 determinò questi valori per un grande numero di elementi contrattili, e trovò che mentre nei muscoli striati di rana il limite massimo per l'efficacia degli stimoli sottominimali lo si ha per intervalli di 0,2—0,25 sec., nei muscoli lisci invece rapidi (mioidi, muscoli cromatofori) arriva a 1 sec. e nei muscoli lenti (oloturie, muscoli intestinali) arriva a 6 sec. Anche per questa proprietà i miotomi del pollo (vedi esp. CLXIII e CXXXIX) si avvicinano ai muscoli lisci. Anche nei miotomi col diminuire dell'intensità degli stimoli si prolunga notevolmente il tempo di eccitazione latente.

In relazione colla sommazione degli stimoli sta la possibilità di ottenere un'attività ritmica dei miotomi con stimoli faradici

insufficienti a determinare il tetano (Esp. CLXIII e CXXXIX). La spiegazione più semplice che si può dare del fenomeno è ammettere che dopo ogni singola scossa ottenuta per sommazione degli stimoli segua un periodo refrattario assoluto o relativo per cui gli stimoli che immediatamente seguono restano inefficaci. Un fatto però che mi riesce oscuro è che per intensità dello stimolo faradico più basse, vicine alla soglia della corrente faradica ancora efficace, si ottengono all'inizio della stimolazione un numero sempre minore di contrazioni fino a ottenerne una sola, e poi l'inattività del miotomo completa anche prolungando indefinitamente lo stimolo; ma basta avvicinare di poco i rocchetti, o interrompere brevissimamente la stimolazione faradica perchè si ottenga una nuova contrazione; tanto che con brevi successive stimolazioni faradiche rapidamente interrotte si possono ottenere nello stesso tempo un numero assai maggiore di contrazioni che con una stimolazione ininterrotta della stessa intensità (Esp. CXXXIX); noterò che in tutti e due i casi le singole contrazioni sembrano assolutamente identiche, e quando si interrompe lo stimolo faradico non si osserva alcun ulteriore allungamento dei miotomi. Forse si tratta di fenomeni di inibizione, ma prima di avanzare delle ipotesi bisognerebbe studiare il fenomeno più estesamente.

In questi ultimi anni, specialmente per merito di K. Lucas ('909) si venne affermando il concetto che anche per i muscoli scheletrici vale la legge del tutto o del nulla. Io credo di poter affermare con una certa approssimazione che ciò vale anche per le contrazioni dei miotomi nei primi giorni della loro capacità funzionale. Ho già ricordato che nei preparati di pochi miotomi, si contraggono più facilmente quelli posti alle estremità, ciò avviene certamente perchè più vicini agli elettrodi; quando in un simile preparato si raggiunge la soglia dello stimolo, spesso non si osserva che la contrazione di un solo miotomo, aumentando l'intensità dello stimolo la contrazione di questo miotomo sembra restare invariata in tutti i suoi caratteri, soltanto a un certo momento, alla sua contrazione si associa quella del miotomo vicino e così successivamente finchè per stimoli intensi si contrae tutta la catena dei miotomi.

Se fosse possibile la registrazione grafica dell'accorciamento complessivo del preparato si otterrebbe certamente, con l'aumento lineare dell'intensità dello stimolo, un aumento a scala dell'accorciamento, come Lucas ha ottenuto per il muscolo dorsale cutaneo della rana.

Nei miotomi dell'embrione di pollo non si osserva la propagazione dell'eccitamento da un punto all'altro dell'embrione come fu osservato da Galeotti e Levi negli Anfibi. Ciò è probabilmente dovuto all'eccitabilità più grande dei miotomi negli Anfibi e forse è in relazione con differenze sostanziali funzionali e strutturali esistenti tra i miotomi nelle due diverse classi di animali; la funzione motoria negli embrioni di Anfibi ha certamente significato e importanza assai diverse che non negli embrioni degli uccelli.

c) Contrattilità latente e contrazioni spontanee nei miotomi.

Le ricerche di Galeotti e Levi '913 dimostrarono negli Anfibi che la motilità per stimoli meccanici ed elettrici compare prima della motilità spontanea; lo stesso si potrebbe ripetere per l'embrione di pollo se si confrontano le osservazioni di Preyer con le mie; però vien fatto di domandarsi se la precoce capacità contrattile dei miotomi per stimoli elettrici sia veramente una funzione latente, la quale permane allo stato potenziale, senza dare alcuna manifestazione attuale di se, sino alla metà del 5^o giorno, quando sono state riconosciute delle contrazioni spontanee. Non mi è naturalmente concesso di esprimere una convinzione precisa, perchè in un periodo anteriore al 5^o giorno delle contrazioni spontanee non furono viste; però vi è qualche argomento che mi fa ritenere che la contrattilità precoce dei miotomi per stimoli elettrici sia veramente in atto fino dalla sua prima comparsa, sotto forma di contrazione tonica.

Come risulta dal protocollo, buona parte degli embrioni li raccolsi fra la 60^a e l'80^a ora d'incubaz.; questo periodo corrisponde per quanto riguarda lo sviluppo delle curve nel corpo dell'embrione, al 3^o stadio di Staderini ('912). Ebbi sempre l'avvertenza di esaminare la forma degli embrioni in sito appena aperto il guscio calcareo e la membrana testacea; così potei osservare che effettivamente, salvo piccole differenze individuali, col procedere dello sviluppo un tratto sempre maggiore dell'embrione, a partire dall'estremità cefalica presenta la nota rotazione intorno all'asse longitudinale e l'incurvamento a concavità ventrale; però tale incurvamento non è mai così spiccato quale risulta dalle figure di Duval '89, di Keibel 1900, di Staderini '12 e in genere da tutte le figure di embrioni riprodotte nei lavori speciali; però quello che è notevole e che osservai posso dire con assoluta co-

stanza, quell'atteggiamento di spiccata flessione ventrale viene assunto lentamente dall'embrione in seguito al raffreddamento dell'uovo; la cosa è già evidente esaminando l'embrione in sito, entro l'amnios integro, ma la flessione avviene con maggiore rapidità ed è più facilmente apprezzabile raccogliendo l'embrione in Ringer, piuttosto freddo, entro l'amnios o anche dopo asportato l'amnios. Negli ultimi esperimenti fatti, l'accentuarsi o meno della curvatura ventrale dell'embrione era diventato per me criterio sufficiente per giudicare se i suoi miotomi sarebbero stati eccitabili o meno con gli stimoli elettrici. Si tratta evidentemente di una lenta contrazione dei miotomi sotto lo stimolo del freddo, la quale ha l'effetto di incurvare il dorso dell'embrione in modo analogo a quanto osservai per stimoli elettrici; quando si fissano gli embrioni a scopo istologico, essi vengono irrigiditi in questo atteggiamento che viene assunto verosimilmente per l'azione del freddo e forse anche per eccitamento diretto alla contrazione dei miotomi dovuta all'azione del liquido fissatore. Questa eccitabilità dei miotomi per stimoli termici la potei constatare pure sul preparato in plasma, eseguito per la stimolazione elettrica; l'abbassamento rapido della temperatura l'ottennevo o ponendo un pezzettino di ghiaccio sul preparato, o facendo evaporare dell'etere. Secondo l'antica distinzione dei muscoli in termostaltici e atermostaltici (vedi Richet '82) i miotomi sarebbero termostaltici come i muscoli della vita vegetativa. L'eccitabilità dei miotomi per stimoli termici nell'embrione del pollo credo possa avere una certa importanza anche durante lo sviluppo normale; è noto come la chioccia che sta covando, abbandoni periodicamente le uova e le lasci raffreddare; procedimento che, ad imitazione della natura, è pure raccomandato e seguito dai pollicultori che fanno uso di incubatrici artificiali. In base a queste osservazioni ritengo quindi che i miotomi non appena sono contrattili per stimoli elettrici abbiamo pure nell'embrione, in via normale di sviluppo, un'attività contrattile attuale che si manifesta sotto forma di una tensione variabile ma permanente. Questa tensione in parte, e forse complementamente al suo inizio, è dovuta semplicemente all'elasticità dei miotomi distesi per l'ineguale accrescimento loro e degli altri organi, ma in parte essa va forse interpretata come tono muscolare. Non sono alieno dal credere che quando è avvenuta una prima fase nella differenziazione dei miotomi, per cui le sue cellule affatto indifferenti si sono allungate a fuso sino a raggiungere il limite tra un somite e l'altro, il loro ulteriore allungamento avvenga in modo passivo per l'allungarsi più rapido del midollo spinale e della

corda dorsale; è possibile che con questo meccanismo si ottenga la prima differenziazione strutturale e funzionale dei miotomi. A ogni modo è certo che fin tanto che i somiti conservano la loro struttura epiteliale, il corpo dell'embrione si presenta pianeggiante, mentre la sua curvatura ventrale coincide con la differenziazione dei miotomi; è naturale quindi ammettere tra i due fatti una certa correlazione. Naturalmente i miotomi non hanno nulla a vedere con la curvatura nucale e dell'appendice caudale che avvengono con altro meccanismo.

Per quando Staderini nel suo lavoro sulle curve normali e anormali dell'embrione non si occupi dell'intimo meccanismo di formazione di esse curve, e non abbia esaminato istologicamente gli embrioni, pure dalla descrizione e dalle figure dei suoi embrioni anormali mi sembra risulti abbastanza chiaramente come l'assente o deficiente curvatura ventrale del tronco dell'embrione dipenda da mancato sviluppo dei miotomi. Così per es. nell'esp. 14 pag. 237 trova: „alla 6^a ora e $1/2$ di incubazione l'uovo è posto per 10' nella neve... embrione all'inizio 6^o giornata di sviluppo, il suo dorso invece della normale convessità generale si presenta incurvato solo nella parte anteriore, mentre la parte rimanente è pianeggiante... il tronco è più lungo e più affilato che d'ordinario.“

Nell'esperimento 17, pag. 238: „alla 72^a ora per 12' nella neve poi ripresa l'incubazione fino all'ora 115^a.

L'embrione è più piccolo del normale, la curvatura in senso antero-posteriore e il movimento di rotazione sono avvenuti in maniera completa solo nella parte anteriore del corpo (testa e inizio del tronco ...

Tutto quel tratto del tronco compreso fra gli arti ant. e post. non ha subito i normali movimenti di flessione e di torsione.“

Dalla fig. il tronco dell'embrione risulta simile a quello dell'esperimento 14; quì la parte anteriore del tronco si è incurvata normalmente perchè il raffreddamento nella neve è stato provocato alla 72^a ora, quando i miotomi più craniali si erano già sviluppati e non potevano quindi essere arrestati nel loro sviluppo.

Lo stesso fatto si nota pure in altri esperimenti che tralascio di trascrivere.

Senza voler qui cercare di precisare i rapporti di causa ed effetto tra sviluppo globale dell'embrione e sviluppo dei suoi miotomi, ritengo molto verosimile che i miotomi sino dal primo momento in cui si contraggono per stimoli elettrici, abbiano pure una

funktionale kontraktile aktuelle nella loro sede normale di sviluppo. Può darsi che si tratti di una semplice tensione elastica, che a temperatura costante non presenti nemmeno variazioni, comunque se essa esiste non può essere indifferente per lo sviluppo morfologico dell'embrione e per la differenziazione strutturale dei miotomi.

Zusammenfassung.

Herzanlage.

Die ersten Kontraktionen der Herzanlage des Hühnerembryos treten regelmäßig während der Differenzierung des 9. Paares der Urwirbel auf; ausnahmsweise auch früher (7. Paar Somiten).

Wenn man die Keimscheiben vor Beginn der Herzkontraktionen in Hühnerplasma explantiert und sie sich „in vitro“ fortentwickeln läßt, während man sie fortdauernd unter dem Mikroskop überwacht, so kann man beobachten, daß die allerersten Kontraktionen auf eine äußerst kleine Zone der Herzwand beschränkt sind. Dieses Gebiet liegt meistens auf der Höhe der größten Breite der Herzanlage, häufiger auf der linken als auf der rechten Seite. Die entgegengesetzte Hälfte beginnt nach kurzer Zeit sich ganz unabhängig zusammenzuziehen. Nach und nach erreicht ein immer größerer Teil des Herzgewebes seine funktionelle, spezifische Tätigkeit.

Die Kontraktionen haben von Anfang an einen regelmäßigen Rhythmus; anfangs sind sie äußerst spärlich (4—5 pro Minute); sie werden in kurzer Zeit häufiger und kräftiger.

Das Auftreten der ersten Kontraktionen trifft immer mit einer geringen Vergrößerung des mittleren Abschnittes der Herzanlage zusammen. Gleich nachher bildet sich an der Grenze, zwischen dem mittleren Teile des Herzens und den Wurzeln der *Venae anphalo-mentericæ*, ein spitzwinkliger Einschnitt. Das ventrale Mesokard kann an einer verschieden langen Strecke des Herzrohres erhalten sein, während das dorsale Mesokard noch nicht ausgebildet ist.

Bei Beginn seiner funktionellen Tätigkeit besteht der myo-epikardiale Mantel aus einem Blatte von epithelialem Aussehen. Das Blatt ist von einer einzigen oder doppelten Schicht von kubischen oder prismatischen Zellen gebildet. Diese Zellen sind miteinander, besonders an den Kanten, fest verbunden; wenn man auch die Herzanlage histologisch noch so sorgfältig untersucht, so sind in keinem

Schnitte der Herzwand Myofibrillen darstellbar. Die ersten Kontraktionen sind also rein sarkoplasmatischer Natur.

Sobald die ersten Myofibrillen sich in der Herzwand zu differenzieren anfangen, und nicht früher, übt das CaCl_2 eine charakteristische Wirkung aus; diese Lösung ruft dissoziierte Kontraktionen hervor. Gleichzeitig kann die synergische Kontraktion der Herzwand unabhängig fort dauern, zugleich mit den Kontraktionen, die an das Vorhandensein der Myofibrillen gebunden sind. Diese Erscheinung deute ich als eine Dissoziation der fibrillären und sarkoplasmatischen Kontraktionen, die vom CaCl_2 verursacht ist.

Beim Abkühlen werden die Kontraktionen in den ersten Stunden sehr leicht zum Stillstand gebracht.

Sobald die automatische kontraktile Tätigkeit der Herzanlage angefangen hat, sind elektrische Reize auf sie wirksam; diese Reizbarkeit ist anfangs sehr schwach, bald aber steigt sie erheblich.

Im embryonalen Herzen, in den ersten Tagen der Bebrütung, bewirken die elektrischen Reize eine Beschleunigung des Rhythmus; den Extrakontraktionen folgen nie Kompensationspausen.

Die einzelnen Teile der Herzanlage enthalten eine sehr große Entwicklungsselbständigkeit. Die Asynchronizitäten der verschiedenen Herzgebiete, die sich bilden können, verschwinden in kurzer Zeit, denn bald können die Reize zur Kontraktion von einem zum anderen Teil des Herzens sich fortpflanzen; und der Abschnitt, welcher einen rascheren Rhythmus besitzt, zwingt auch die Teile, welche sich langsamer kontrahieren, zu diesem Rhythmus.

Diese Reizleitung ist auch zwischen verschiedenen „in vitro“ gezüchteten, embryonalen Herzfragmenten möglich. Zwei Fragmente, die vorher asynchronisch pulsierten, nehmen, nach einer gewissen Zeit der Züchtung, einen genau synchronischen Rhythmus an (A. Fischer).

Die Wirkung der Temperaturänderungen auf solche Präparate beweist, daß ein Fragment auf das andere funktionell bestimmend wirkt. Die Beschleunigung des Rhythmus, die man vereinzelt in einem der Fragmente mit elektrischen Reizen hervorrufen kann, pflanzt sich auf das andere fort.

Die Reizleitung geschieht wahrscheinlich durch die plasmatischen Brücken, welche die einzelnen Myoblasten vom Anfang ihrer Funktion miteinander verbinden.

Die Möglichkeit plasmatischer Verbindungen zwischen „in vitro“ gezüchteten Myoblasten, auch nachdem sie eine vollständige In-

dividualität erreicht haben, wird durch mikrurgische Experimente bewiesen. Beim Durchschnüren von Zellen, zwischen denen mit dem Mikroskop absolut keine Grenze wahrnehmbar ist, bemerkt man, daß oft diese Verbindungen zwischen verschiedenen Zellen nur eine scheinbare ist, in anderen Fällen dagegen eine wirkliche plasmatische Kontinuität besteht.

Myotome.

Die Kontraktilität der Myotome, für Induktionsschläge, erscheint im Stadium von 27—28 Urwirbeln, zwischen der 60. und 65. Stunde Bebrütung 38⁰—39⁰.

Die Kontraktionen entwickeln sich zuerst in den kranial gelegenen Segmenten und pflanzen sich allmählich kaudalwärts in einer immer größeren Zahl von Myotomen fort.

Die Kontraktionen erfolgen immer in kraniokaudaler Richtung.

In den jüngsten Embryonen (27—28 Ursegmente) sind die Kontraktionen sehr träge; dies zeigt sich bei der Verkürzung und der Ausdehnung; die Weite der Kontraktionen ist äußerst gering kaum mit einer 4—500maligen Vergrößerung wahrnehmbar; die Reizbarkeit ist sehr klein; die Myotome erschlaffen auch bei fortschreitender tetanisierender Reizung, sobald sie die größte Verkürzung erreicht haben; die Latenzperiode kann auf 1—2 Sekunden geschätzt werden; die Myotome sind sehr leicht erschöpft; nach je einer oder zwei Kontraktionen sind sie für einige Minuten nicht reizbar; spontane Kontraktionen konnte ich nicht beobachten. Das Veratrin hebt die Reizbarkeit sehr schnell auf.

In diesem Stadium bestehen die Myotome aus spindelförmigen, ungefähr 150 μ langen Elementen, sie enthalten einen einzigen blasenförmigen Kern; in ihrem Zytoplasma liegen zahlreiche, lange, wellenförmige Chondriochonten, in der Richtung der Zellachse orientiert; dazu macht das ganze Zytoplasma den Eindruck, als ob es in der Längsrichtung gekämmt wäre; Myofibrillen sind nicht nachweisbar.

Mit fortschreitender Entwicklung wird in den Myotomen die Erregbarkeit immer größer; es verkürzt sich die Latenzperiode; die Kontraktionen werden größer, rascher, besonders in der Verkürzungsphase; durch rhythmische Reize kann man eine immer größere Anzahl von Kontraktionen auslösen.

Wenn Ermüdung eintritt, wird die Ausdehnung immer länger, bis sie wegen ihrer Länge nicht mehr direkt mit dem Mikroskope

wahrzunehmen ist. Der Tetanus ist immer, bis zum Stadium von ungefähr 40 Ursegmenten, sehr kurz (wenige Sekunden).

Während dieser Periode haben die Myotome an Länge zugenommen; in den Myoblasten, die immer einkernig sind, haben sich mehrere, anfangs nur glatte und später quergestreifte Myofibrillen, differenziert. Sobald die Myofibrillen histologisch darstellbar sind, übt das Veratrin auf die Myotome seine typische Wirkung aus.

Schon beim ersten Auftreten ihrer Kontraktionsfähigkeit besitzen die Myotome in hohem Grade das Summationsvermögen einzelner unwirksamer Reize. Nicht zu starke tetanisierende Reize können in den Myotomen eine rhythmische Tätigkeit hervorrufen. Es ist sehr wahrscheinlich, daß auch für die Myotome, ebenso wie für das Herz, das Gesetz des „nichts oder alles“ gilt.

Die Myotome sind seit dem Auftreten ihrer elektrischen Reizbarkeit für Temperaturänderungen sehr empfindlich; sie verkürzen sich langsam beim Abkühlen.

Die Struktur wie die Kontraktilität der Myotome entwickelt sich allmählich; ich möchte aber noch einmal betonen, daß im Hühnerembryo die Kontraktilität der Myotome für elektrische Reize, nachweisbar ist, bevor die Differenzierung des spezifischen Elementes der willkürlichen Muskulatur, bzw. der Myofibrillen, begonnen hat.

Auch in dem Material, das zur Ausbildung der Skelettmuskulatur bestimmt ist, wie im Herzen, geht die funktionelle Fähigkeit der Differenzierung der Myofibrillen voraus; in beiden Arten von Myoblasten muß man annehmen, daß die ersten Kontraktionen rein sarkoplasmatisch sind.

Bibliografia.

- Asai, T., Beiträge zur Histologie und Histogenese der quergestreiften Muskulatur der Säugetiere. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 86, 1915, S. 8.
- Born, Über Verwachsungsversuche mit Amphibienlarven. Arch. f. Entw.-Mech. d. Org., Bd. 4, 1897.
- Bottazzi, F., Sur le développement embryonnaire de la fonction dans les organes à cellules musculaires. Arch. Ital. de Biol., T. 26, 1896.
- The oscillations of the auricular tonus in the Batrachian heart with a theory on the function of sarcoplasma in muscular tissue. Journ. of Physiol., Vol. 21, 1897, p. 1.
- Sulla ritmicità del moto del cuore ecc. Lo Sperimentale, Vol. 51, 1897, p. 16.
- Recherches sur les mouvements automatiques de divers muscles striés. Journ. de Physiol. et de Pathol. générale. T. 8, 1906, 8^o, A, p. 193.

- Bottazzi, F., Contributi alla fisiologia dei muscoli fetali. *Mélanges biolog.* déd. a Ch. Richet, Paris 1912, p. 489.
- Nuove ricerche sui muscoli striati e lisci di animali omeotermi. *Mem. della R. Acc. dei Lincei, Serie V^o, Vol. 10*, p. 489; *Vol. 11*, 1915, p. 43.
- Chambers, R., The physical structure of protoplasm as determined by microdissection and injection. *General Cytology*, edited by E. V. Cowdry, Chicago 1924.
- Congdon, E. D., The embryonic structure of avian heart muscle with some considerations regarding its earliest contraction. *Anat. Rec.*, *Vol. 15*, 1918, p. 19.
- Dareste, C., Recherches sur la production artificielle des monstruosités ou essais de Teratogénie expérimentale. Paris (B. Reinwald) 1877.
- De Garis, C. F., Notes on some interrelations of fibroblast in tissue cultures. *Bull. of John Hopkins Hospital No. 397, Vol. 35*, 1924, p. 90.
- Duesberg, J., Über Chondriosomen und ihre Verwendung zu Myofibrillen beim Hühnerembryo. *Anat. Anz.*, *Bd. 34*, 1909, *Ergänzungsh.*, S. 123.
- Les chondriosomes des cellules embryonnaires du poulet, et leur rôle dans la genèse des myofibrilles. *Arch. f. Zellforsch.*, *Bd. 4*, 1910.
- Duval, M., *Atlas d'Embryologie*. Paris (Masson) 1889.
- Ekman, G., Neue Beiträge zur frühesten Entwicklung des Amphibienherzens. *Societas Scient. Fennica. Communicationes Biologicae, Vol. I*, 1924, p. 9.
- Experimentelle Beiträge zur Entwicklung des Bombinatorherzens. *Oversikt av Finska Vetenskaps Societats Föreläsningar*, *Vol. 63*, 1920—21.
- Engelmann, Kontraktilität und Doppelbrechung. *Pflügers Arch.*, *Bd. 11*, 1875, S. 433.
- Kontraktilität und Doppelbrechungsvermögen. *Arch. f. Anat. u. Physiol., Phys. Abt.* 1907.
- Enriques, P., *La teoria cellulare*. Bologna (Zanichelli) 1911.
- Fano, G., Sullo sviluppo della funzione cardiaca nell'embrione. *Lo Sperimentale*, 1885.
- Fano e Badano, Sulla fisiologia del cuore embrionale del pollo nei primi stadi dello sviluppo. *Arch. per le Scienze Med.*, *Vol. 14*, 1890.
- Fischer, Alb., The interaction of two fragments of pulsating heart tissue. *The Journ. of Exp. Med.*, *Vol. 39*, 1924, p. 577.
- Beitrag zur Biologie der Gewebezellen. *Arch. f. mikr. Anat. u. Entw.-Mech.*, *Bd. 104*, 1925, S. 210.
- Tissue culture studies in experimental morphology and general physiology of tissue cells in vitro. Copenhagen (Levin e Munksgaard) 1925.
- Galeotti e Levi, Sui rapporti fra differenziazione morfologica e funzionale nei muscoli delle larve di anfibi. *Arch. f. Entw.-Mech. der Organismen*, *Bd. 37*, 1913, S. 599—628.
- Godlewski, E., Die Entwicklung des Skelett- und Herzmuskelgewebes der Säugetiere. *Arch. f. mikr. Anat.*, *Bd. 60*, 1902, S. 111.
- Graeper, L., Untersuchungen über die Herzbildung der Vögel. *Arch. f. Entw.-Mech. der Organismen*, *Bd. 24*, 1907.
- Heidenhain, M., Beiträge zur Aufklärung des wahren Wesens der faserförmigen Differenzierungen. *Anat. Anz.*, *Bd. 16*, 1899.
- Plasma und Zelle, Jena (Fischer) 1907.

- Keibel, F., Normentafeln zur Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere. 2. Heft: *Gallus domesticus*. Jena (Fischer) 1900.†
- Knower, H. Mc. E., Effects of early removal of the heart and arrest of the circulation on the development of frog embryos. *Anat. Rec.*, Vol. 1, 1907, p. 161.
- Levi, G., Di alcuni rapporti fra struttura e funzione negli animali. *Atti d. Soc. it. per il progr. d. Scienze*, 1910.
- Migrazione di elementi specifici differenziati in colture di miocardio e di muscoli scheletrici. *Arch. p. le sc. med.*, Vol. 40, 1916.
- Nuovi studi su cellule coltivate in vitro. *Arch. Ital. di Anat. e di Embriol.*, Vol. 16, 1919, p. 423.
- Sulla persistenza dei caratteri specifici nelle cellule coltivate in vitro. *Monit. Zool. Ital.*, Anno 31, 1920, No. 6, p. 96.
- Conservazione e perdita dell'indipendenza delle cellule dei tessuti. *Arch. f. exper. Zellforschung*, Bd. 1, 1925, S. 1.
- Lewis, M. R., The development of cross-striations in the heart of the chick embryo. *The Johns Hopkins Hospital Bulletin*, Vol. 30, 1919, No. 340.
- Lewis, W. H., The influence of the temperature on the rhythm of the isolated heart of the young chick embryo. *The Johns Hopkins Hospital Bulletin*, Vol. 35, 1924, p. 252.
- Luciani, *Fisiologia dell'uomo*. 5. ed., Vol. 3, Milano 1919.
- Lucas, K., The "all or none" contraction of the amphibian skeletal muscle fibre. *Journal of Physiol.*, Vol. 38, 1909, p. 113—133.
- Mevés, Über Mitochondrien bzw. Chondriokonten in den Zellen junger Embryonen. *Anat. Anz.*, Bd. 31, 1907, S. 399—407.
- Die Chondriokonten als Träger erblicher Anlagen. *Cytologische Studien am Hühnerembryo*. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 72, 1908, S. 816—867.
- Mines, G. R., On the spontaneous movements of amphibian skeletal muscle in saline solutions with observations on the influence of potassium and calcium chlorides on muscular excitability. *Journ. of Physiol.*, Vol. 37, 1908, S. 408.
- Mollier, S., Die erste Entwicklung des Herzens, der Gefäße und des Blutes. *Handb. der vergl. u. experim. Entwicklungslehre der Wirbeltiere*, herausgeg. von O. Hertwig, Bd. 1, S. 1125.
- Olivio, O., Sulle modificazioni dell'attività contrattile del cuore di embrioni di pollo determinate dall'azione di sali di calcio e di potassio. *Arch. di Fisiol.*, Vol. 22, 1924, p. 1.
- Sull'inizio della capacità funzionale dei tessuti contrattili nell'embrione di pollo, in relazione alla loro differenziazione strutturale e morfologica. *Atti della R. Acc. Naz. dei Lincei*, Vol. 33, 1924, p. 209, 297.
- Sulle modificazioni delle cellule coltivate in vitro nelle varie fasi della loro vita. *C. R. de l'Ass. des Anat.*, 1925 (in corso di pubblicazione).
- Péterfi, T., *Mikrurgische Methodik*, *Handb. der biologischen Arbeitsmethoden*, herausgeg. v. Abderhalden, Abt. V, T. 2, 1924, H. 5, S. 479.
- Prenant, A., *Problemes cytologiques généraux soulevés par l'étude des cellules musculaires*. *Journ. de l'Anat. et de la Physiol.*, Année 47, 1911, p. 449—524, 601—689, e Année 48, 1912, p. 109—181, 260—335.
- Preyer, W., *Physiologie spéciale de l'embryon*. Paris (F. Alcan) 1887.
- Richet, Ch., *Physiologie des muscles et des nerfs*. Paris 1882.

500 O. Olivo, Funzione contrattile del cuore e dei miotomi dell'embrione etc

Sabin, F. R., Studies on the origin of bloodvessels and of red blood-corpuscles as seen in the living blastoderm of chicks during the second day of incubation. Publ. 272 of the Carnegie Institution of Washington, 1919, p. 213—262.

Schockaert, A., Nouvelles recherches comparatives sur la texture et la développement du myocarde chez les vertébrés. Arch. de Biologie, T. 24, 1909, p. 277.

Shipley, P. G., The development of erythrocytes from hemoglobin-free cells and the differentiation of heart muscle fibers in tissue cultivated in plasma. Anat. Rec., Vol. 10, 1916, p. 347.

Staderini, R., Curve normali ed anormali del corpo dell'embrione. Arch. Ital. di Anat. e di Embriol., Vol. 11, 1912—13, p. 221—298.

Steinach, Die Summation einzeln unwirksamer Reize als allgemeine Lebenserscheinung. Arch. f. die ges. Physiol., Vol. 125, 1908, p. 239—290, 347.

Weiss, Recherches sur les muscles de l'embryon. Journ. de la Physiol. et de la Pathol., 1899, p. 665—672.

Weiss, O., Fisiologia generale dei nervi e dei muscoli. Fisiologia dell'uomo, pubbl. da Zuntz e Loewy, Torino, U. T. E. T., 1918.

Whorter, Mc., and Whipple, A. O., The development of the blastoderm of the chick in vitro. Anat. Rec., Vol. 6, 1912, p. 121.

Handbuch der vergleichenden Physiologie

Herausgegeben von

Hans Winterstein
Rostock

Zuletzt erschien:

Band II: Physiologie des Stoffwechsels

Zweite Hälfte

Mit 328 Abbildungen im Text

XII, 1155 S. gr. 8° 1924 Rmk 24.—, in Halbleder gebunden 31.—

Inhalt:

Die Sekretion von Schutz- und Nutstoffen. Von Léon Fredericq (Lüttich). Mit 38 Abbild. im Text. (S. 1—256.)

Die Exkretion. Von R. Burian (Neapel), J. Strohl (Zürich), A. Muth (Neapel), R. Ehrenberg (Göttingen), A. Noll (Jena). Mit 253 Abbild. im Text (S. 257—900.)

Physiologie des Stoffwechsels. Von Otto Kestner und Rahel Plaut (Hamburg). Mit 37 Kurven im Text. (S. 901—1112.)

Sachregister. (S. 1113—1152.)

In der Lieferungsausgabe setzt sich dieser Band aus den Lieferungen 4, 5, 36, 47, 49, 50, 52, 57/58 zusammen.

Einbanddecken in Halbfranz = Rmk 5.—

Mit dem in Kürze erscheinenden „Band I, erste Hälfte“ wird das große Werk abgeschlossen sein. — Gesamtpreis für die bis jetzt vorliegenden Bände I² II¹, II², III¹, III², IV = Rmk 153.—, gebunden (Halbfranz) 203.—

Zeitschrift für allgemeine Physiologie, 1914: . . . ein monumentales Sammelwerk, das jedem unentbehrlich ist, der in irgendeinem Gebiete der vergleichenden Physiologie arbeitet. Prof. Dr. A. Pütter.

Zoolog. Zentralblatt. 1911, Nr. 9/10: Das Wintersteinsche Handbuch der vergleichenden Physiologie wird für den weiteren Ausbau dieser auch für den Zoologen so bedeutungsvollen Wissenschaft eines der wichtigsten Hilfsmittel bilden und in keiner zoologischen Bibliothek fehlen dürfen. A. Schuberg, Gr.-Lichterfelde.

Ueber Plasmastrukturen und ihre funktionelle Bedeutung

Von
Prof. Dr. Julius Arnold
Heidelberg

Mit 4 lithographischen Tafeln. XVIII, 471 S. gr. 8° 1914 Rmk 16.—

Inhalt: Ueber die Formbestandteile des Epithels der Froschzunge und ihre Funktionen. Zur feineren Struktur der Wimperzellen. Die Assimilation von Fetten und Glykogen. — Ueber die Formbestandteile des Oberflächen- und Drüsenepithels des Magens und ihre Funktionen. Zur feineren Struktur der Zellen. — Ueber die Formbestandteile der Oberflächen- und Drüsenepithelien des Darmes und ihre Funktionen. Zur feineren Struktur dieser Zellformen. — Ueber die Formbestandteile der Leberzellen und ihre Funktionen. Zur feineren Struktur der Leberzellen. — Ueber die Formbestandteile der Nierenzellen und ihre Funktionen. Zur feineren Struktur der Nierenzellen. — Ueber die Formbestandteile der Drüsenzellen der Mamma und ihre Funktionen. Zur feineren Struktur der Drüsenzellen. — Ueber die Formbestandteile der Haut und Nickhaut des Frosches sowie ihrer Drüsen und ihre Funktionen. Froschhaut. Drüsen der Froschhaut. Granulabilder der Nickhaut und ihrer Drüsen. Granulabilder der Cornea. — Ueber die Formbestandteile der Knorpelzellen und ihre Funktionen. Zur feineren Struktur der Knorpelzellen. — Ueber die Formbestandteile der Skelettmuskulatur und ihre Funktionen. Zur feineren Struktur des Myoplasmas und des Sarkoplasmas. — Ueber die Formbestandteile der Muskulatur des Froschherzens und ihre Funktionen. Zur feineren Struktur der Muskelfasern und des Sarkoplasmas. — Ueber die Formbestandteile der Muskulatur des Warmblüterherzens und ihre Funktionen. — Ueber die Formbestandteile der weißen Blutkörper und verwandter Zellarten, sowie über ihre Funktionen. Eosinophile und pseudoeosinophile Zellen. Leukozyten mit polymorphen Kernen. Lymphozyten. Entzündliche Zellformen. — Ueber die Formbestandteile der histiogenen Mastzellen und ihre Funktionen. — Rückblicke und Ausblicke. Methoden. — Formbestandteile des Plasmas. — Alimentäre Veränderungen der Granula, Mitosomen und Mitochondrien. — Biologische Bedeutung der Formbestandteile des Plasmas. Adsorption und Absorption. Speicherung, Assimilation und Synthese. Resorption. Sekretion. Oxydase und Peroxydase. Rolle der Formbestandteile des Plasmas bei der Histogenese. Degenerative Veränderungen der Formbestandteile.

Als Ergebnis langjähriger Untersuchungen über Plasmastrukturen wird das morphologische Wesen der Formbestandteile des Plasmas (der Plasmosomen und Granula, Mitosomen und Mitochondrien, sowie der sog. Netzapparate) bei verschiedenen Zellformen geschildert und ihre funktionelle Bedeutung erörtert. Die Beteiligung dieser Formelemente an den Stoffwechselvorgängen unter normalen und pathologischen Verhältnissen erfährt eine eingehende Besprechung. In diesen Beiträgen zur Morphologie und Biologie der Zellen sind für Anatomen, Physiologen und Pathologen wertvolle Beobachtungen niedergelegt.